

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00548

## 一种从唾液中快速提取基因组 DNA 的方法

杨泽民<sup>1\*</sup>, 林 静<sup>1</sup>, 陈龙辉<sup>2</sup>, 张 敏<sup>3</sup>, 陈蔚文<sup>2</sup>

1. 广东药学院基础学院生物化学与分子生物学系, 广州 510006

2. 广州中医药大学脾胃研究所, 广州 510405

3. 广州市海珠区妇幼保健院中医科, 广州 510240

**[摘要]** **目的** 探索一种快速、有效且对人体无创伤的基因组 DNA 提取方法。**方法** 比较碘化钾法和口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒法对新鲜和室温放置 1 周的唾液标本的基因组 DNA 提取和 *TP53*、*PRB-3* 基因 PCR 扩增效果。同时采集 99 名健康儿童和成人的唾液标本验证碘化钾法提取唾液基因组 DNA 的稳定性。**结果** 两种 DNA 提取方法都能从新鲜唾液标本中获得高质量的基因组 DNA, 其中碘化钾法的得率和  $D_{260}/D_{280}$  分别为  $(1.91 \pm 0.15) \mu\text{g}$  和  $1.99 \pm 0.05$ , 试剂盒法分别为  $(2.64 \pm 0.34) \mu\text{g}$  和  $1.81 \pm 0.02$ 。对于室温放置 1 周的唾液标本, 两种提取方法获得的 DNA 虽然降解明显, 但是对 *TP53* 和 *PRB-3* 基因都能扩增正确大小的目的片段。碘化钾法提取的 99 名健康儿童和成人的唾液基因组 DNA 虽然个体差异明显[得率为  $(1.89 \pm 0.46) \mu\text{g}$ ], 但是 DNA 质量稳定可靠 ( $D_{260}/D_{280}$  为  $1.96 \pm 0.10$ )。**结论** 碘化钾法提取唾液基因组 DNA 不仅廉价、高效, 而且对人体无创伤, 非常适合大范围分子流行病学研究。

**[关键词]** 唾液; 碘化钾; DNA 提取; 聚合酶链反应

**[中图分类号]** R 342.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2015)05-0548-06

### A method for fast genomic DNA extraction from saliva and its application

YANG Ze-min<sup>1\*</sup>, LIN Jing<sup>1</sup>, CHEN Long-hui<sup>2</sup>, ZHANG Min<sup>3</sup>, CHEN Wei-wen<sup>2</sup>

1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong, China

2. Pi-Wei Institute, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China

3. Department of Traditional Chinese Medicine, Maternal and Child Health Hospital of Haizhu District, Guangzhou 510240, Guangdong, China

**[Abstract]** **Objective** To explore a fast, effective and noninvasive method of genomic DNA extraction. **Methods** We compared the genomic DNAs extracted by two DNA extraction methods of potassium iodide (KI) and Kit from saliva (fresh and placed a week at room temperature), and PCR amplifications were done for *TP53* and *PRB-3* genes from their extracted DNA. Ninety-nine healthy children and adults were recruited and their saliva samples were collected to detect the stability of DNA extracted by KI. **Results** High quality genomic DNAs were extracted by both methods from the fresh saliva. The DNA yield based on KI was  $(1.91 \pm 0.15) \mu\text{g}$ , with the  $D_{260}/D_{280}$  being  $1.99 \pm 0.05$ , and that of Kit was  $(2.64 \pm 0.34) \mu\text{g}$ , with the  $D_{260}/D_{280}$  being  $1.81 \pm 0.02$ . Although the extracted DNAs had obvious degradation from saliva samples placed for a week at room temperature, the expectant DNA fragments were successfully amplified by PCR for *TP53* and *PRB-3* genes using these extracted DNAs. Although the genomic DNAs from saliva samples of 99 healthy volunteers by the method of KI showed individual difference (DNA yield was  $[1.89 \pm 0.46] \mu\text{g}$ ), the DNA quality was stable and reliable ( $D_{260}/D_{280}$  was  $1.96 \pm 0.10$ ). **Conclusion** KI method for extracting genomic DNA from saliva is not only cheap and highly effective, but also noninvasive, making it suitable for large-scale epidemiological studies.

**[Key words]** saliva; potassium iodide; DNA extraction; polymerase chain reaction

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(5): 548-553]

**[收稿日期]** 2014-05-20

**[接受日期]** 2014-07-17

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81102703), 广东省科技计划项目(2013A032500005), 广东省中医药管理局项目(20123001), 广东药学院基础学院教改项目。Supported by National Natural Science Foundation of China (81102703), Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2013A032500005), Project of Administration of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Province (20123001), and Teaching Reform Project of School of Basic Courses of Guangdong Pharmaceutical University.

**[作者简介]** 杨泽民, 博士, 高级实验师。

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 020-39352192, E-mail: yzm3102001@gmail.com

由于遗传基因的差异,不同个体对一些疾病具有不同的敏感性,对同一药物的药效和不良反应也存在差异,然而这些都与 DNA 的多态性密不可分。通过 DNA 水平的遗传多态性分析,我们不仅能够发现某些疾病的易感基因,建立遗传病的基因诊断方法,而且还能从基因组水平深入认识疾病及药物作用个体差异的机制,指导和优化临床用药。因此, DNA 多态性在生物医学、药物开发、法医鉴定甚至人类进化起源等领域都有非常重要的价值。提取高质量的基因组 DNA 是这些研究的基础。传统用于 DNA 提取的样本主要来源于血液,但是这一来源将面临着大样本采集的经费和实用性的问题,尤其不适合于儿童和健康志愿者的标本采集。唾液作为一个潜在的诊断标本,具有采集方便、无创伤等优点。多个研究显示唾液来源的基因组 DNA 完全适用于大样本 DNA 多态性分析的流行病学研究<sup>[1-4]</sup>。

本研究从获得口腔黏膜细胞的途径、储存条件、DNA 提取方法等方面探索从唾液中提取人类基因组 DNA 的方法,测定基因组 DNA 的含量和质量,并用 *TP53* 和 *PRB-3* 基因的 PCR 反应验证其扩增效果。同时采集大量健康儿童和成人唾液标本评估该方法 DNA 提取的稳定性,以期获得一种快速、有效且对人体无伤害、无痛苦的基因组 DNA 提取方法。

## 1 材料和方法

**1.1 标本采集与处理** 从广东药学院征集 6 名健康志愿者,按照课题组前期唾液定时采集的方式<sup>[5]</sup>采集基础状态下 3 min 的唾液,简单操作如下:受试者除喝水外禁食 1 h 以上,采样前静坐 10 min,并通过吞咽排空口腔唾液,然后通过自然流出的方法收集 3 min 口腔分泌的唾液。取 2 个 1.5 mL 的 EP 管,各加入 0.1 mL 唾液,其中一管室温(25℃)放置 1 周备用,另一管直接用于 DNA 提取。20 min 后,按照口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)说明书的要求,取一支口腔拭子在面颊内壁两侧各反复刮拭 6 次,室温(25℃)放置 1 周备用。取另一支口腔拭子重复操作 1 次,直接用于 DNA 提取。

按照上述唾液自然流出的采集方式<sup>[5]</sup>,分别从广州市海珠区妇幼保健院和广东药学院采集 47 名健康儿童(23 名男孩,24 名女孩)和 52 名健康成人(26 名男性,26 名女性)的唾液标本,-80℃保存并

在 1 周内进行 DNA 提取实验。采集 3 min 的平均唾液量为(0.46±0.29)mL(范围 0.2~1.2 mL)。该研究的所有参与者和儿童参与者的监护人都签署了《知情同意书》。

**1.2 唾液基因组 DNA 提取和鉴定** 对采集的 6 名健康志愿者新鲜和室温放置 1 周的唾液标本,分别利用碘化钾法和试剂盒法进行 DNA 提取。(1)碘化钾法:参考 Loparev 等<sup>[6]</sup>的方法并做部分修改。取 0.1 mL 唾液置于 1.5 mL 离心管中,加 0.01 mol/L PBS 溶液 500 μL,反复吹打几下,11 000×g 离心 5 min;沉淀加 50 μL 5 mol/L 的碘化钾溶液,漩涡 30 s,再加 100 μL 0.9% NaCl 和 150 μL 酚:氯仿(25:24)溶液,震荡 30 s,11 000×g 离心 5 min;取上清,加入等体积的异丙醇,混匀,11 000×g 离心 5 min;沉淀加入 500 μL 无水乙醇洗涤,11 000×g 离心 5 min。沉淀室温晾干,用 TE 缓冲液溶解。(2)口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒法:试剂盒购自天根生化科技有限公司, DNA 提取按照试剂盒的操作说明进行。99 名健康儿童和成人的唾液标本,解冻后直接用碘化钾法进行 DNA 提取。提取的 DNA 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,电泳结果用 Bio-Rad GelDoc XR 凝胶成像系统进行观察拍照。DNA 含量和纯度用 NanoDrop 2000 分光光度计(Thermo Scientific)测定。

**1.3 基因组 DNA 体外 PCR 扩增** 以提取的唾液基因组 DNA 样品作为模板,在 ABI 2720 型 PCR 仪上扩增肿瘤蛋白 *TP53* 基因和唾液特异蛋白 *PRB-3* 基因。PCR 反应体系按照东盛生物 PCR Mix 试剂盒的说明书进行配制,20 μL 的反应体系含 DNA 模板 50 ng(室温放置 1 周的唾液标本提取的 DNA 使用的 PCR 模板量为 100 ng),上、下游引物各 1 μL(引物浓度为 1 μmol/L)。*TP53* 引物序列:P1 为 5'-CCCTTCCCAGAAAACCTACC-3', P2 为 5'-CAGGCATTGAAGTCTCATGG-3',扩增片段大小为 192 bp; PCR 循环参数:95℃ 3 min,然后 95℃ 15 s,60℃ 30 s 循环 30 次。*PRB-3* 引物序列:P1 为 5'-ACAGCCTCCCCAGTAATCA-3', P2 为 5'-TTAAAGGTAGAGCTATGAC-3',扩增片段大小为 1 261 bp;反应条件:95℃ 5 min,然后 95℃ 1 min,55℃ 1 min,72℃ 1.5 min 循环 30 次,72℃ 7 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。另

外,为了探讨唾液中微生物和食物残渣是否会干扰 PCR 扩增,课题组对碘化钾法提取的基因组 DNA 进行 TP53 基因荧光实时定量 PCR 扩增。定量 PCR 反应按照 iTaq Universal SYBR Green Super-mix (Bio-Rad) 说明书配制反应液,在 Bio-Rad CFX96 Touch Real-Time PCR 仪上进行扩增。20 μL 反应体系含样本 DNA 模板 10 ng, TP53 引物序列和用量同前。定量 PCR 循环温度为 95℃ 预温 3 min, 95℃ 15 s、60℃ 30 s 循环 35 次。

1.4 统计学处理 利用 SPSS 19.0 软件对 DNA 提取的得率和  $D_{260}/D_{280}$ 、 $D_{260}/D_{230}$  值数据进行 *t* 检验,检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 唾液基因组 DNA 的得率和纯度比较 表 1 显示了不同保存条件和提取方法提取的唾液基因组 DNA 的 DNA 提取效率(得率),以及  $D_{260}$  与  $D_{280}$ 、 $D_{230}$  之间的比值。从 DNA 提取的得率来看,以使用试剂盒法提取新鲜唾液标本获得的 DNA 含量最高,以试剂盒法提取室温保存 7 d 的唾液标本获得的 DNA 含量最低。碘化钾法对两种不同保存方法获得的 DNA 含量居中,且两者差异不大。从提取质量来看,碘化钾法对新鲜唾液标本提取的 DNA 的  $D_{260}/D_{280}$  值为 2.0 左右,而且对室温保存样本获得 DNA 的  $D_{260}/D_{280}$  值更高;试剂盒法对两种保存方法获得的 DNA 的  $D_{260}/D_{280}$  值都在 1.8 左右。并

且碘化钾法提取的 DNA 的  $D_{260}/D_{230}$  值都明显低于试剂盒法,这些结果提示碘化钾法提取的 DNA 可能存在少量 RNA 和盐离子、糖类物质的残留。此外,碘化钾法对 99 名健康儿童和成人 -80℃ 冻存唾液标本提取的基因组 DNA 的得率和  $D_{260}/D_{280}$ 、 $D_{260}/D_{230}$  都与碘化钾法提取新鲜唾液标本的结果一致。

2.2 唾液基因组 DNA 电泳结果 碘化钾法和试剂盒法对新鲜唾液样本提取的 DNA 用 40 μL 的 TE 缓冲液溶解,对室温放置 1 周的唾液标本提取的 DNA 用 15 μL 的 TE 缓冲液溶解。随机选择 2 个健康志愿者的 8 个 DNA 样品,各取 5 μL 点样在同一块凝胶上进行电泳,电泳结果如图 1。由图 1A 可知,碘化钾法和试剂盒法对新鲜唾液样本提取的 DNA 在 23 kb 附近都有一条明显的主带,但是试剂盒法获得的 DNA 拖尾现象明显,提示 DNA 存在降解。两种 DNA 提取方法对于室温放置 1 周的唾液标本提取的 DNA 都存在一定程度的降解,尤其是试剂盒法获得的 DNA 样品降解严重,其中一个标本几乎没有明显的主带,提示碘化钾法对于室温放置 7 d 的唾液样本也能获得较好的提取效果,而试剂盒法则效果较差。此外,对碘化钾法提取的 99 份健康儿童和成人 -80℃ 冻存唾液标本的基因组 DNA,随机选择 5 个 DNA 样品进行电泳,其电泳图谱与碘化钾法对新鲜唾液标本的提取结果类似(图 1B),提示碘化钾法对新鲜或 -80℃ 冻存唾液标本提取的基因组 DNA 质量比较稳定。

表 1 不同保存条件和提取方法提取的基因组 DNA 得率和纯度

Tab 1 Genomic DNA yield and purity from different conservation conditions and extraction methods

Group	<i>n</i>	Yield <i>m</i> /μg	$D_{260}/D_{280}$	$D_{260}/D_{230}$
Fresh saliva (KI method)	6	1.91±0.15	1.99±0.05	0.73±0.26
Saliva at room temperature for 7 d (KI method)	6	1.95±0.13	2.20±0.05*	0.70±0.22
Fresh saliva (Kit method)	6	2.64±0.34*	1.81±0.02*	1.55±0.53*
Saliva at room temperature for 7 d (Kit method)	6	0.51±0.11*	1.83±0.09*	1.53±0.59*
Saliva preserved at -80℃ (KI method)	99	1.89±0.46	1.96±0.10	0.75±0.95

KI: Potassium iodide. \*  $P < 0.05$  vs fresh saliva by KI method

2.3 唾液基因组 DNA 体外 PCR 扩增结果 以提取的基因组 DNA 作为模板,对 TP53 和 PRB-3 基因进行 PCR 扩增,各取 5 μL 扩增产物电泳检测。为了便于结果的比较,图 2A~2D 仅展示了图 1A 和 1B 中样本基因组 DNA 的 PCR 扩增结果。由图可以看出,不同来源的 DNA 样品对 TP53 和 PRB-3

基因都有非常好的 PCR 扩增效果,PCR 产物大小与预期一致。其中不同来源的基因组 DNA 对 TP53 基因(短片段 DNA)的 PCR 扩增效果没有差异,然而对 PRB-3 基因(长片段 DNA)的 PCR 扩增效果则有明显差异,表现为新鲜样本的扩增效果较好,室温放置 1 周的唾液样本扩增效果较差。提示虽然两

种提取方法之间没有明显的差异,但是不同的唾液保存方法却存在明显不同。此外,定量 PCR 结果(图 2E 和 2F)显示,图 1B 中随机选择的 5 个唾液基

因组 DNA 对 *TP53* 基因都有很好的荧光扩增曲线,并且它们的荧光熔解曲线只有一个特征峰,提示唾液中微生物和食物残渣不会干扰人源 PCR 扩增。

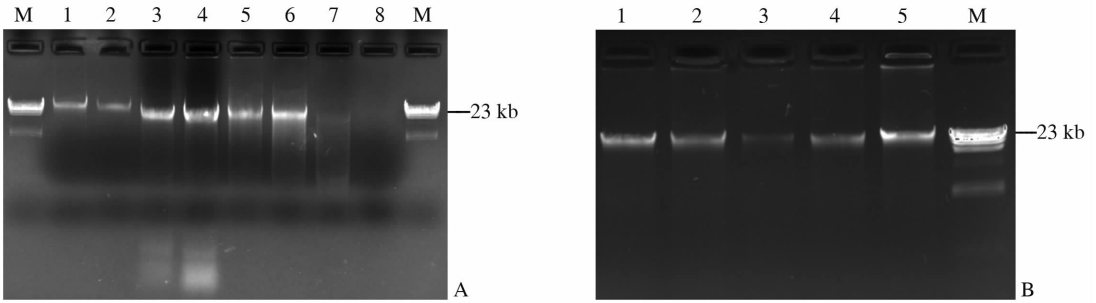


图 1 唾液基因组 DNA 电泳结果

Fig 1 Electrophoresis results of salivary genomic DNA

9A: Genomic DNAs from different conservation conditions and extraction methods. M indicated  $\lambda$ DNA/*Hind* III molecular weight marker; 1-4 indicated DNAs extracted by the method of KI (1, 2 indicated fresh saliva and 3, 4 indicated saliva placed for a week at room temperature); 5-8 indicated DNA extracted by the method of Kit (5, 6 indicated fresh saliva and 7, 8 indicated saliva placed a week at room temperature). B: Genomic DNA was extracted by the method of KI from saliva of 5 healthy volunteers

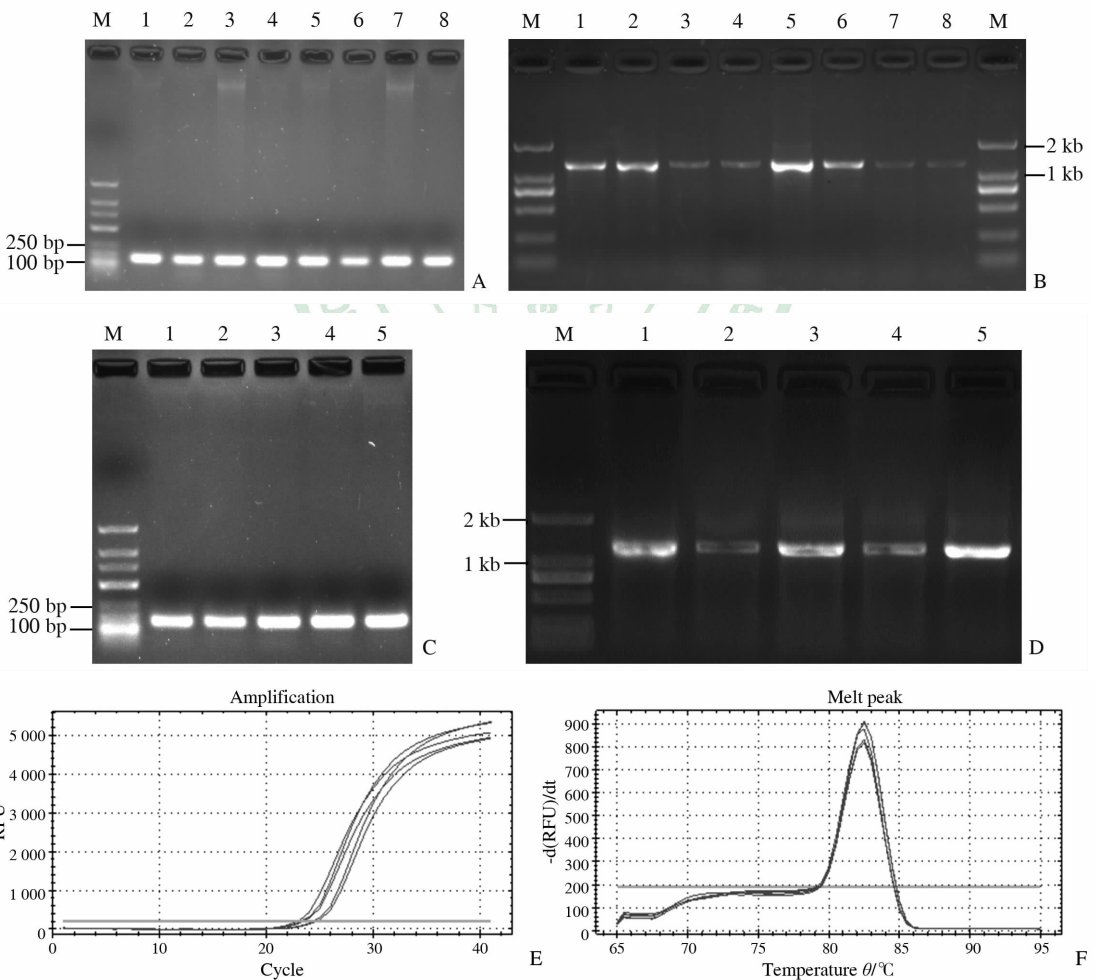


图 2 唾液基因组 DNA 的 *TP53* 和 *PRB-3* 基因 PCR 扩增

Fig 2 PCR amplification of *TP53* and *PRB-3* based on salivary genomic DNA

A, B: PCR amplifications of *TP53* (192 bp) and *PRB-3* (1 261 bp) genes based on eight genomic DNA samples from different conservation conditions and extraction methods, respectively. M indicated DS-2000 molecular weight marker, 1-8 were described in Fig 1A; C, D: PCR amplifications of *TP53* and *PRB-3* genes based on five genomic DNA samples from Fig 1B; E, F: Fluorescence amplification and melt peak curves of *TP53* gene by quantity PCR based on five genomic DNA of Fig 1B. RFU: Relative fluorescence units

### 3 讨论

基因多态性研究已经广泛应用到临床检验、医药研究、法医鉴定和分子流行病的调查中,其样本来源大部分还是以血液为主。然而当血液标本的采集存在困难时,如健康人群,尤其是儿童和老年人,由于身体状况或其他原因不愿提供血液样品,则需要通过其他方式来获得 DNA 标本。理论上 DNA 可以从身体的任何细胞中获取。人类口腔黏膜为复层鳞状上皮,由多层细胞组成,其中基底层具有旺盛分裂能力,最表层的角化层已衰老退化,可以自然脱落至唾液中,也可在外力作用下剥落到载体上。这些脱落口腔细胞虽然细胞核固缩,但同样具有完整人类的基因组 DNA 序列,从而成为法医学和遗传学 DNA 多态性检测分型的生物性检验材料<sup>[7]</sup>。目前,从唾液采集的方式到基因组 DNA 提取方法已有大量文献报道,并且一致显示从唾液标本中能够提取高质量的基因组 DNA,满足各种 DNA 多态性的分析<sup>[1-4,6]</sup>,但是这些研究方法主要以商业试剂盒为主,价格较贵,操作烦琐。

本研究比较了碘化钾法和口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒对唾液基因组 DNA 的提取,从结果来看,两种方法对新鲜唾液样本都能获得高质量的 DNA,并且对 *TP53* 和 *PRB-3* 基因都能获得很好的 PCR 扩增效果。其中试剂盒法获得的 DNA 含量更高,但其 DNA 降解也更高。究其原因可能与试剂盒法的采样方式和 DNA 提取过程有关。口腔上皮细胞具有代谢旺盛、更新快、易脱落的特点。商业试剂盒采用灭菌棉签在口腔面颊内壁两侧各擦拭 6 次,而碘化钾法则采用直接吐唾液的方式收集唾液标本,因此前者收集到的口腔上皮细胞较多,其获得的 DNA 含量相应也较多。另外,收集到的口腔上皮细胞为衰老退化的细胞,并且细胞核已固缩,其 DNA 存在氧化、断裂、缺失和交联等现象,核苷酸长链的脆性增加,变得比较容易断裂。此时除了采样方式的物理剪切会增加 DNA 的断裂外, DNA 提取过程如果过于烦琐,移液和离心过程的物理剪切必然会增加 DNA 的断裂降解。试剂盒法需要经过细胞裂解、过柱前处理、过柱、去杂质和溶解 DNA 等 10 个步骤,包括 8 次离心、6 次漩涡、2 次裂解液的移液操作,共计 80 min。然而,碘化钾法只需要经

过细胞裂解、去蛋白、沉淀、洗涤和溶解 DNA 等 5 个常规的步骤,涉及 4 次离心、3 次漩涡、2 次裂解液的移液操作,共计 25 min。因此,试剂盒棉签拭子的采样方式和烦琐的 DNA 提取过程是导致 DNA 降解的重要原因。陈嘉昌等<sup>[8]</sup>也发现利用棉签拭子采集的标本提取的 DNA 会出现严重的降解,而且还呈现出明显的 DNA ladder 凋亡条带。他们认为口腔上皮细胞离开水相环境后,会加速其凋亡速度。同时,由于采样方式的物理剪切,核膜和质膜发生破裂,致使基因组 DNA 暴露在极易受降解的环境中。相对于试剂盒法,碘化钾法提取的唾液基因组 DNA 的  $D_{260}/D_{280}$  值偏高(2.0 左右)、 $D_{260}/D_{230}$  值偏低(0.7 左右),该结果揭示碘化钾法获得的基因组 DNA 存在一定量的 RNA 和盐离子、糖类物质的残留。由于细胞裂解释放的 RNA 在高盐或有机溶剂中短期内很难彻底降解,再加上唾液中本身含有较多的糖类物质,因此去除 RNA、增加 DNA 的洗涤次数对获得高纯度的基因组 DNA 非常必要。碘化钾法在 DNA 提取过程中未做 RNA 去除处理,并且只用无水乙醇洗涤 DNA 一次,因此其获得的 DNA 纯度偏低,建议在使用碘化钾法的时候可以适当增加一次 DNA 的洗涤。试剂盒法采用的硅基质材料能高效、专一地吸附 DNA,并且对提取的 DNA 进行了 2 次以上的洗涤,因此其基因组 DNA 纯度较高。但是从 PCR 的结果来看,碘化钾法残留的 RNA 和盐离子杂质并不会影响 PCR 扩增。为了验证碘化钾法提取唾液基因组 DNA 的稳定性,本研究对 99 名健康儿童和成人 -80℃ 冻存唾液标本进行了 DNA 提取,结果显示 DNA 含量虽然存在个体差异,但是 DNA 的质量较好且稳定可靠,对 *TP53* 和 *PRB-3* 基因都能获得很好的 PCR 扩增效果。对于个体差异的原因,可能与唾液量、口腔发育和口腔卫生的差异等有关。可见碘化钾法提取唾液基因组 DNA 简便快速、稳定可靠,适用于分子流行病学大样本 DNA 的提取和多态性分析。

此外,为了考虑唾液样本运输的问题,本研究还做了唾液标本室温放置 1 周的 DNA 提取实验。研究结果显示,两种提取方法获得的基因组 DNA 都明显降解,但是碘化钾法提取的基因组 DNA 主带清晰,而试剂盒法的主带较弱甚至没有。另外,两种方法获得的 DNA 对 *TP53* 和 *PRB-3* 基因都能获得

很好的 PCR 扩增效果,但是对于 *PRB-3* 基因长片段 PCR 扩增效果,室温放置 1 周的唾液样本明显差于新鲜标本。该结果说明室温放置 1 周的唾液标本虽然降解明显,但是获得的 DNA 足够用于 1 kb 左右 DNA 片段的 PCR 扩增。推测两种 DNA 提取方法的 PCR 结果没有差异而基因组 DNA 却存在差异的原因,可能与它们的唾液采集方式有关。棉签拭子采样时的物理剪切和干燥环境,会促进唾液标本 DNA 的降解(如前所述)。吐唾液的采样方式可以避免棉签拭子采样时的问题,而且其采集的唾液标本室温下会滋生大量口腔微生物的生长,从而增加其提取基因组 DNA 的含量。因此,碘化钾法提取的基因组 DNA 可能含有大量的微生物 DNA。然而这些杂质 DNA 是否会影响唾液基因组 DNA 的多态性分析呢? 本研究利用碘化钾法提取的唾液基因组 DNA 进行 *TP53* 基因的荧光定量 PCR 实验,结果发现它们都有很好的荧光扩增曲线,并且熔解曲线也没有双峰或多峰出现,该结果证实唾液中的微生物和食物残渣不会给基因多态性分析带来干扰。对于这一点,程家蓉等<sup>[9]</sup>也获得类似的结果。

综上所述,碘化钾法和试剂盒法对于新鲜和室温放置 1 周的唾液标本都能获得足量的 DNA 用于 PCR 扩增,并且两种方法之间没有差异。直接吐唾液的采样方式虽然提取的 DNA 量略少些,但是其 DNA 降解程度较低,应作为唾液标本采集的首选。相对于商业试剂盒法,碘化钾法经过大量唾液标本的验证,不仅廉价、简便,而且能快速从唾液中提取足量和高质量的基因组 DNA,为分子流行病学的研究提供了简易、方便、对人体无损伤的有效方法。

#### [参考文献]

[1] Koni A C, Scott R A, Wang G, Bailey M E, Peplies J, Bammann K, et al. DNA yield and quality of saliva

samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2011, 35 (Suppl 1):S113-S118.

[2] Rogers N L, Cole S A, Lan H C, Crossa A, Demerath E W. New saliva DNA collection method compared to buccal cell collection techniques for epidemiological studies [J]. *Am J Hum Biol*, 2007, 19:319-326.

[3] Nemoda Z, Horvat-Gordon M, Fortunato C K, Beltzer E K, Scholl J L, Granger D A. Assessing genetic polymorphisms using DNA extracted from cells present in saliva samples [J]. *BMC Med Res Methodol*, 2011, 11:170.

[4] 朱伟锋,罗达亚,涂 硕,张霞丽,揭克敏,万福生. 盐析法快速提取口腔拭子 DNA[J]. 第二军医大学学报, 2011,32:1370-1374.

Zhu W F, Luo D Y, Tu S, Zhang X L, Jie K M, Wan F S, et al. A rapid salting out method for DNA extraction from buccal swabs[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2011, 32: 1370-1374.

[5] 陈龙辉,杨泽民,李茹柳,林传权,张 杰,陈蔚文. 柠檬酸滤纸面积及浓度对刺激健康人唾液分泌和唾液淀粉酶活性改变的影响[J]. 广州中医药大学学报,2013, 30:186-190.

[6] Loparev V N, Cartas M A, Monken C E, Velpandi A, Srinivasan A. An efficient and simple method of DNA extraction from whole blood and cell lines to identify infectious agents [J]. *J Virol Methods*, 1991, 34:105-112.

[7] 张 越,梅善宗. 微量口腔粘膜脱落细胞检材 STR 位点的法医学检测分型[J]. 皖南医学院学报,2005,24: 74-76.

[8] 陈嘉昌,张红宇,彭瑾瑜,付艳艳,叶伟超,常 弘. 从唾液获取人体 DNA 的简易方法与应用[J]. 中山大学学报:医学科学版,2006,27(S2):171-173.

[9] 程家蓉,关赛芳,王学励,韩丽华,高玉堂. 从人口腔细胞获取基因组 DNA 作基因多态性分析的可行性[J]. 癌症,2005,24:893-897.

[本文编辑] 尹 茶