

医疗样本及动物组织核酸提取方案-动物组织 DNA 篇

背景介绍

形态功能类似的细胞和细胞间质组成的多细胞是动物的基本结构。动物组织可根据其起源、形态结构和功能上的共同特性，分为上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织四大类。动物学根据自然界的形态，身体内部构造，胚胎发育的特点，生理习性，生活的地理环境等特征，将特征相同或相似的动物归为同一类。而动物组织核酸研究也是至关重要的一环。

TIANGEN 目前拥有针对各种动物组织样本的核酸提取方案，采用了柱法提取、磁珠法提取以及配合仪器的高通量提取方法，可以快速提取核酸，可提供高品质核酸供进行下游各类研究。

样本类型

人，动物和海洋动物等各种动物组织

样本特点

组织成分单一，核酸含量相对丰富，其他杂质相对较少，相对易于提取

样本保存

建议将动物组织切成小块分装后在-20℃或-80℃冻存，避免反复冻融

样本前处理

前处理方法	方法特点	耗材或仪器	适用客户类型
手工法	操作时间长， 通量低	研钵、玻璃珠等	样本数量较少，针对难研磨的样本
组织研磨器法	简便省时， 通量低	<u>TGrinder 电动组织研磨器套装 (OSEY30/Y40)</u> <u>TGrinder 第三代变速组织研磨器套装 (OSE-Y50)</u>	样本数量较少，快速便捷，5-10 秒一个样本，省时省力
均质仪法	简便省时， 研磨充分， 通量高，	<u>TGrinder H24 组织研磨均质仪 (OSE-TH-01, TIANGEN)</u>	样本数量相对较多，TGrinder H24 可同时研磨 24 个样本。

注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 心、肝、脾、肺、肾及肌肉样本中，脾组织 5 mg 即可，肌肉组织得率相对较低，可增加至 50 mg，其余组织 20 mg 即可。

方案介绍

TIANGEN 根据动物组的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从不同动物组织类型中高效分离纯化高质量核酸。

方案分类	产品名称	产品特点	适用客户类型
柱法方案	<u>血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (DP304)</u> ^{1, 2}	适用于小体积全血 (≤1ml)、培养细胞和动物组织等基因组 DNA 的广谱性提取试剂盒。提取的 DNA 无蛋白、核酸酶污染，可直接用于下游实验。	通用型 DNA 提取试剂盒，适用于各种动物组织样本、细胞、小体积全血 (≤1 ml)，样本数量较少，习惯于手工操作。
	<u>海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (DP324)</u>	特别针对海洋动物基因组提取试剂盒，无需酚/氯仿抽提，使用安全快捷方便，可最大限度去除海洋动物组织中的蛋白、脂肪及其他有机化合物等杂质。	适用于各种海洋动物组织样本，样本数量较少，习惯于手工操作。
磁珠法方案	<u>磁珠法动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (DP341)</u>	适用于各种动物组织，采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液体系。	通用型 DNA 提取试剂盒，适用于各种动物组织样本，样本数量较少，习惯手工操作，需配备磁力架。
	<u>磁珠法通用型基因组 DNA 提取试剂盒 (DP705)</u>	通用型的基因组提取试剂盒，可同时适用于提取血液、唾液、拭子、干血斑、组织、漱口水、FFPE、细菌等多种不同类型样本中的基因组 DNA，1 小时内完成提取，提取得率高，完整性好。	通用型 DNA 提取试剂盒，适用于血液、唾液、拭子、干血斑、组织、漱口水、FFPE、细菌等多种不同类型样本，样本种类多，习惯手工操作，需配备磁力架；可在多种仪器上进行整合，方便不同客户使用。

<p>TGuide S32 配套方案</p>	<p><u>TGuide S32 磁珠法动物组织基因组DNA提取试剂盒 (DP602)</u></p>	<p>专为 <u>TIANGEN 自动化核酸提取仪 TGuide S32</u> 研发的预分装试剂盒，可实现样本的高通量自动化提取。</p>	<p>通用型 DNA 提取试剂盒，适用于各种动物组织样本，样本数量多，有自动化提取需求，对实验结果均一化要求高，或人力紧缺的客户。</p>
<p>TGuide M16 配套方案</p>	<p><u>TGuide 细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (OSR-M401)</u></p>	<p>专门为 <u>Tguide M16 自动化核酸提取仪 (YOSE-M16, TIANGEN)</u> 研发的预分装磁珠试剂，从培养细胞和动物组织、石蜡包埋组织、口腔拭子、干血点中提取高纯度的 DNA。本试剂盒包含了磁珠法自动提取 DNA 所需的试剂和耗材，并且试剂都预装在密封的试剂槽中。独特包埋的磁珠，全自动的提取过程，从而快捷方便地分离 DNA。</p>	<p>通用型 DNA 提取试剂盒，适用于各种动物组织样本、细胞石蜡包埋组织、口腔拭子、干血点，样本数量多，有自动化提取需求，对实验结果均一化要求高，或人力紧缺的客户。</p>

使用 TIANGEN 试剂盒发表的文献列表

	文献名	课题组	年份	刊物名	IF
1	Methylation of Tip30 Promoter Is Associated with Poor Prognosis in Human Hepatocellular Carcinoma	第二军医大学	2008	Clin Cancer Res	9.619
2	Detection of intergenic non-coding RNAs expressed in the main developmental stages in Drosophila melanogaster	北京大学	2009	Nucleic Acid Res	9.11

方案实验结果展示

柱法方案结果展示

动物组织

提取方法: 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒 (DP304)
下游应用: 用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验
结果展示: 本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供

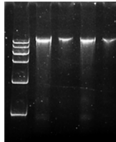
样本	处理量	DNA得率 (µg)
哺乳动物全血	100-500 µl	3-10
禽类、两栖类全血	5 µl	5-10
培养细胞	10 ⁶ -10 ⁷ Cells	5-30
动物组织	30 mg	10-30
小鼠尾	1.2 cm (尖部)	10-25
大鼠尾	0.6 cm (尖部)	20-40

实验方法: 按说明书操作对不同动物组织样本按照说明书进行DNA纯化

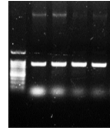
结果评价: 实验结果表明天根本款解决方案具有广泛的样品适用性, 为下游实验提供高纯度高浓度的核酸

小鼠脑组织

提取方法: 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒(DP304)
下游应用: PCR
结果展示: 本实验结果由山东大学医学院提供



基因组电泳图



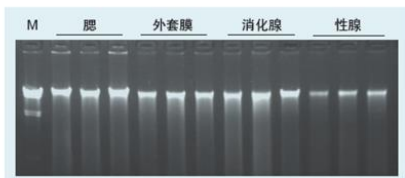
PCR扩增结果电泳图

实验方法: 取50mg小鼠脑组织提取DNA, 洗脱体积50 µl, DNA上样量为3 µl, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min, 如左图。小鼠脑组织基因PCR扩增结果如右图。

结果评价: 紫外分光光度计结果和电泳表明提取到的DNA纯度高, 杂质少, 提取DNA的完整性好。

动物组织

提取方法: 海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒 (DP324)
下游应用: 用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验
结果展示: 本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供



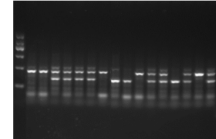
实验方法: 按说明书操作对30 mg的不同组织样本按照说明书进行DNA纯化, 100 µl洗脱, 3 µl上样, 琼脂糖凝胶浓度为1%, 6V/cm, 电泳20 min

结果评价: 实验结果表明天根本款解决方案针对海洋动物组织提取效果较好, 为下游实验提供高纯度高浓度的核酸

鼠尾

提取方法: 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒(DP304)
下游应用: PCR
结果展示: 本实验结果由南京大学科学院提供

样本	浓度 ng/µl	260/280
1	293.9	1.88
2	308.9	1.87
3	182.3	1.87
4	177	1.88
5	182.2	1.89
6	179	1.87
7	177.6	1.87
8	158.1	1.87



实验方法: 分别取50mg鼠尾组织提取DNA, 洗脱体积40 µl。PCR鉴定紫殖的转基因小鼠, 野生型小鼠(较大的单一条带), 杂合小鼠(两条条带)和纯合小鼠(较小的单一条带)。

结果评价: 紫外分光光度计结果表明提取到的DNA纯度高, 纯度好。后续PCR结果显示电泳有清晰的条带, 证明提取的DNA完整性高。

脱落细胞

提取方法: 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒(DP304)
下游应用: 二代测序
结果展示: 本实验结果由上海交通大学医学院提供



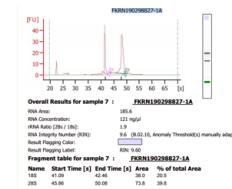
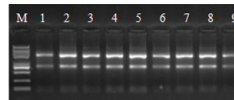
样本	浓度 ng/µl	260/230	260/280
1	265.9	2.19	1.87
2	303.4	2.2	1.89
3	391.5	2.2	1.88
4	365.3	2.16	1.87
5	307.9	2.16	1.87
6	378.9	2.18	1.87

实验方法: 取1 x 10⁶个脱落细胞提取DNA, 洗脱体积50 µl, DNA上样量为3 µl, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min。

结果评价: 紫外分光光度计结果和电泳表明提取的DNA纯度高, 完整性好, 可充分满足后续二代测序实验要求。DP304试剂盒操作非常简便, 提取DNA质量高!

HaCat细胞 (人角质形成细胞系)

提取方法: RNAprep pure培养细胞/细菌总RNA提取试剂盒 (DP430)
下游应用: 二代测序, RT-qPCR
结果展示: 本实验结果由解放军总医院第四医学中心提供



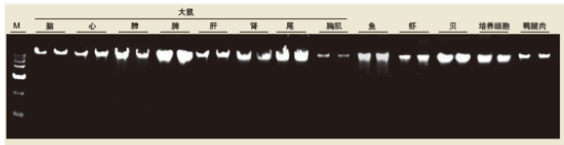
实验方法: 样本量为2.5 x 10⁶个细胞, 洗脱体积50 µl, RNA上样量为500 ng, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min。

结果评价: 电泳有清晰的两条带, 2100结果显示基线平整, RIN值9.6, RNA完整性高。

磁珠法方案结果展示

动物组织

提取方法：磁珠法动物组织基因组DNA提取试剂盒 (DP341)
下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验
结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供

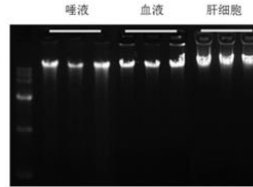


实验方法：按说明书操作对大鼠不同组织、鱼、虾、贝、培养细胞和鸭腿肉等样本进行DNA纯化，洗脱体积均为150 μl，琼脂糖凝胶电泳上样量为1-2 μl

结果评价：实验结果表明天根本款解决方案具有广泛的样品适用性，尤其对鼠尾、鱼、虾、贝等较难处理的样本效果更佳

动物组织

提取方法：磁珠法通用型基因组DNA提取试剂盒(DP705)
下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验
结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供

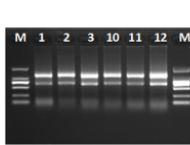


实验方法：按说明书操作对唾液等样本进行DNA纯化，洗脱体积100 μl，上样2 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min

结果评价：实验结果表明天根本款解决方案具有广泛的样品适用性，不仅可以满足手工提取，配合仪器又能适用于高通量提取，为下游实验提供高纯度高浓度的核酸

鸡肝脏和肾脏

提取方法：磁珠法组织/细胞/血液总RNA提取试剂盒 (DP761)
下游应用：二代测序、RT-qPCR
结果展示：本实验结果 北京某知名技术服务公司 提供



Sample	Conc.(ng/μl)	A260/A280	A260/A230	体积 (μl)	总量 (μg)
肝脏1	453.907	2.057	2.108	50	22.70
肝脏2	587.516	2.05	2.122	50	29.38
肝脏3	618.71	2.02	2.038	50	30.94
肾脏10	656.869	2.035	2.203	50	32.84
肾脏11	412.243	2.068	2.103	50	20.61
肾脏13	726.228	2.05	2.208	50	36.31

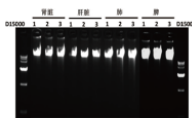
实验方法：洗脱体积50 μl，电泳上样量150 ng。

结果评价：电泳有清晰的三条带，没有蛋白和DNA残留；证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。TIANGEN的试剂盒目前拥有一系列血液样本的核酸提取方案，可提供高品质的核酸进行下游各类实验研究。

TGuide S32 配套方案结果展示

动物组织

提取方法：TGuide S32磁珠法动物组织基因组DNA提取试剂盒 (DP602)
下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验
结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供



提取大鼠不同组织基因组 DNA 得率

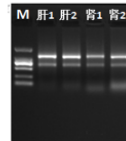
组织样本	样本处理量	DNA 得率 (μg)	OD260/280	OD260/230
肾	20 mg	20.4 ± 0.6	1.78 ± 0.02	1.59 ± 0.07
肝	20 mg	17.0 ± 0.8	1.78 ± 0.01	1.57 ± 0.05
肺	20 mg	23.0 ± 1.1	1.77 ± 0.03	1.51 ± 0.15
脾	20 mg	47.2 ± 2.2	1.80 ± 0.02	1.82 ± 0.19

实验方法：提取20mg 肾脏、肝脏、脾、肺，洗脱体积200 μl，上样5 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min

结果评价：实验结果表明天根本款解决方案具有广泛的样品适用性，配合仪器可以实现高通量提取，为下游实验提供高纯度高浓度的核酸

鸡肝脏和肾脏

提取方法：磁珠法组织/细胞/血液总RNA提取试剂盒 (DP761)
 TGuide S32全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S32, TIANGEN)
下游应用：二代测序、RT-qPCR
结果展示：本实验结果 北京某知名技术服务公司 提供



Sample	Conc. (ng/μl)	A260/A280	A260/A230	实际剩余体积 (μl)	总量 (μg)
肝脏1	376.789	2.066	2.263	60	22.81
肝脏2	299.93	2.065	2.224	60	18.00
肾脏-1	223.438	2.045	2.253	60	13.41
肾脏-2	316.018	2.025	2.246	60	18.96

实验方法：洗脱体积70 μl，实际剩余60 μl，电泳上样量150 ng。

结果评价：电泳有清晰的三条带，没有蛋白和DNA残留；证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。TIANGEN的试剂盒目前拥有一系列血液样本的核酸提取方案，可提供高品质的核酸进行下游各类实验研究。

TGuide M16 配套方案结果展示

动物组织

提取方法：TGuide细胞/组织基因组DNA提取试剂盒（OSR-M401）

下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验

结果展示：本实验结果由天根生化科技（北京）有限公司提供

样本	处理量	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	DNA 浓度 (ng/μl)
小鼠肌肉	20 mg	1.77	24.93
小鼠脑	20 mg	1.84	39.75
小鼠肾	10 mg	1.89	83.36
小鼠肝脏	10 mg	1.85	101.30
小鼠尾	0.5 cm	1.92	79.8

实验方法：提取不同动物组织，洗脱体积200 μl，上样5 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min

结果评价：实验结果表明天根本款解决方案具有广泛的样品适用性，高通量提取可以高效获得得到高纯度高浓度的核酸