

宏基因组核酸提取方案——肠道篇

背景介绍

由 Handelsman 等在 1998 年提出的宏基因组学(metagenomics)概念, 是一种以环境样品中的微生物群体基因组为研究对象, 以功能基因筛选和/或测序分析为研究手段, 以微生物多样性、种群结构、进化关系、功能活性、相互协作关系及与环境之间的关系为研究目的的新的微生物研究方法。随着高通量测序技术的不断发展, 宏基因组学的研究也掀起了一波热潮, 应用范围十分广泛, 例如环境检测、水质检测、挖掘功能菌株、肠道菌群检测、新药开发等领域。

随着宏基因组研究的兴起, 肠道菌群的研究也受到愈来愈多研究者的追捧。人体肠道内寄生着 10 万亿个细胞, 与消化系统、代谢性疾病、免疫性疾病等息息相关。目前针对肠道菌群的基因检测, 一般通过提取粪便或肠道内容物的核酸, 从而分析肠道菌群的构成和产物代谢情况。粪便的四分之一是水分, 其余大多是蛋白质、无机物、脂肪、未消化的食物纤维、脱了水的消化液残余、以及从肠道脱落的细胞和死掉的细菌等。肠道内容物基本和粪便组成一致, 但在细菌的组成结构上会有较大差异。样本中的食物纤维、蛋白质等均会对提取造成干扰, 其中食物纤维会增加裂解难度, 蛋白质会降低核酸的纯度, 影响下游研究的开展。

TIANGEN 目前拥有一系列肠道内容物样本的核酸提取方案, 采用了独特的沉淀系统, 可提供高品质核酸供进行下游各类研究。

样本类型

肠道内容物样本。

样本特点

材料成分复杂: 样本中包含大量蛋白质、无机物、脂肪、食物纤维等, 均会对核酸提取造成干扰。无机物及食物纤维会影响裂解液发挥作用; 大量的蛋白质会降低核酸的纯度, 严重影响下游实验的开展。

样本中存在种类繁多的细菌类型, 例如大肠杆菌、厌氧杆菌、链球菌、葡萄球菌等, 对裂解液的裂解能力要求非常高。

关键点提示: 充分研磨及去除杂质。

样本保存

分装 EP 管后，直接放入-20℃或-80℃冰箱保存，防止微生物生长。

样本前处理

由于环境样本种类繁多、组分也相对复杂，故在样本前处理阶段应注意样本需充分打散，便于裂解液充分发挥裂解作用，TIANGEN 经对比实验发现，使用 TGrinder H24 组织研磨均质仪可达到更好的研磨效果。

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，研磨不充分，通量低	<u>TGyrate Basic 涡旋混匀仪 (OSE-VX-01, TIANGEN)</u>	样本数量较少，便于手工操作
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

在样本前处理阶段应注意样本需充分打散，便于与裂解液充分发挥裂解作用，提取过程中会采用物理（离心）方法去除固体杂质和化学（溶液沉淀）法去除杂质，保证得到高质量核酸。

方案介绍

TIANGEN 根据肠道内容物样本的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从各类型样本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>粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP328)</u>	适用于不同来源的固态或液态粪便样本，提取的 DNA 片段大，纯度高，可直接用于下游实验。	样本数量较少，习惯于手工操作。
磁珠法方案	<u>磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP712)</u>	适用于各类粪便样本，同时也适用于土壤及肠道微生物提取，提取的 DNA 纯度高，可直接用于下游实验。	样本数量较少，习惯手工操作，需配备 <u>磁力架 (OSE-MF-01, TIANGEN)</u> 。可整合不同平台仪器。
TGuide S32 配套方案	<u>TGuide S32 磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP612)</u>	专为 <u>TGuide S32 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S32, TIANGEN)</u> 研发的预分装试剂盒，一键启动，30min 即可实现 32 个样本的自动化核酸提取。	日均可提取 200 个样本。适合样本数量多，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。

TGuide
S96 配套
方案

**磁珠法土壤和粪便基
因组 DNA 提取试剂盒
(DP712)**

可整合 *TGuide S96 全自动核酸提取纯化仪 (OSE-S96, TIANGEN)*，一键启动，30min 即可实现 96 个样本的自动化核酸提取。

日均可提取 500 个样本。适合样本数量多，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。

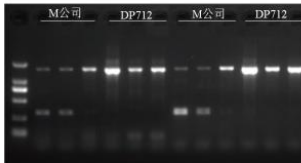
注：**红色**标出的 TIANGEN 产品可点击，直接了解产品相关信息

方案实验结果展示

磁珠法方案结果展示

肠道微生物

提取方法：磁珠法土壤和粪便基因组DNA提取试剂盒 (DP712)
下游应用：二代测序、RT-qPCR
结果展示：本实验结果由 *天辰生化科技(北京)有限公司* 提供

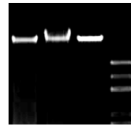


实验方法：使用DP712和M公司竞品分别提取鱼类肠道微生物基因组进行PCR检测，细菌鉴定选择通用引物为27F/1492R，产物约1500bp，20 μl体系5 μl 电泳结果。1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm 电泳30 min

结果评价：电泳有清晰的一条带，且DP712的条带远亮于M公司，说明DP712的提取效果比竞品好。TIANGEN目前拥有成熟的肠道样本核酸提取方案，可提供高品质核酸进行下游各类研究。

昆虫肠道内容物

提取方法：粪便基因组DNA提取试剂盒(DP328)
下游应用：二代测序
结果展示：本实验结果由 *东北林业大学林学院* 提供



样本	浓度-ng/μl	260/230	260/280
1	108	1.9	1.6
2	88.9	2.6	1.9
3	82.3	2.4	1.8

实验方法：取50mg昆虫肠道内容物提取DNA，洗脱体积50 μl。DNA上样量为 1 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得到的DNA完整性好，质量高。DP328试剂盒操作简便，提取质量稳定！