

宏基因组核酸提取方案——土壤篇

背景介绍

土壤由岩石风化而成的矿物质、动植物，微生物残体腐解产生的有机质、土壤生物（固相物质）以及水分（液相物质）、空气（气相物质），氧化的腐殖质等组成。其中矿物质和腐殖质组成的固体土粒是土壤的主体，约占土壤体积的 50%，均为土壤核酸提取中的重要干扰物质，矿物质会影响微生物的破壁，腐殖质会抑制下游扩增等研究。随着高通量测序技术的不断发展，针对土壤微生物的研究也日益受到越来越多研究者的关注。

TIANGEN 目前拥有一系列土壤样本的核酸提取方案，采用了独特的沉淀系统，最大限度去除腐植酸残留，可提供高品质核酸供进行下游各类研究。

样本特点

1. 材料成分复杂：土壤中包含大量矿物质、有机质、腐殖质等，均会对核酸提取造成干扰。矿物质会影响裂解液发挥作用；有机质主要由动植物和微生物的残体组成，造成蛋白质污染；腐殖质残留有很强的抑制作用，会严重影响下游实验的开展。
2. 样本中存在较难破壁的成分，例如真菌、放线菌等，对裂解液的裂解能力要求非常高。
3. 关键点提示：研磨充分、充分去除腐植酸。

样本类型

黄土，黑土，森林土等

样本前处理

由于土壤样本种类繁多、组分也相对复杂，且微生物细胞紧紧吸附在土壤颗粒表面，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 组织研磨均质仪可以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>涡旋仪 (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。
------	------------------------	--	-------------------------------------

一、手工法前处理操作

1. 取 750 μ l 缓冲液 SA 和 0.25 g 研磨珠至 2 ml 离心管中。
2. 在上述 2 ml 离心管中加入土壤样本 0.25 g，使用涡旋仪混匀 15 sec 至样本充分打散。
3. 向样本中加入 60 μ l 缓冲液 SC，使用涡旋仪持续振荡 10 min 至样本混匀。

二、均质仪法前处理操作

1. 取 750 μ l 缓冲液 SA 和 0.25 g 研磨珠至 2 ml 离心管中。
2. 在上述 2 ml 离心管中加入土壤样本 0.25 g 和 60 μ l 缓冲液 SC，使用 TGrinder H24 组织研磨均质仪混匀（6M/S 的速度振荡 30s，间隔 30s，共 2 个循环）。

注意事项

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，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）法去除腐植酸，保证得到高质量核酸。

方案介绍

TIANGEN 根据土壤样本的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从不同土壤类型中高效分离纯化高质量核酸，可应用于下游 PCR，芯片，测序，二代测序等分子生物学实验。

方案分类	产品名称	产品特点	适用客户类型
柱法方案	<u>土壤基因组 DNA 提取试剂盒 (DP336)</u>	柱法，操作简便，适用于从不同来源的土壤样本中提取高纯度 DNA，可直接用于下游实验。	样本数量较少，便于手工操作。
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>	磁珠法，适用于各类土壤样本，同时也适用于粪便及肠道微生物样本，提取的 DNA 纯度高，可直接用于下游实验。	样本数量较少，便于手工操作，需配备 <u>磁力架 (OSE-MF-01, TIANGEN)</u> 。可整合不同平台仪器。

高通量方案	<u>TGuide S32 磁珠法土壤和粪便基因组DNA提取试剂盒 (DP612)</u>	磁珠法, 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, 可实现样本的高通量自动化提取。	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: 高通量方案详情参考《[宏基因组核酸提取方案——高通量自动化篇](#)》

方案实验结果展示

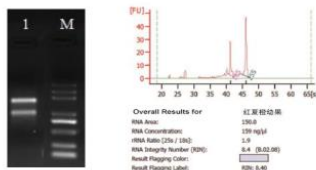
柱法方案结果展示

红夏橙幼果

提取方法: RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用: 二代测序、RT-qPCR

结果展示: 本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法: 上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉, 洗脱体积30 μl, RNA上样量为200 ng, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min. Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

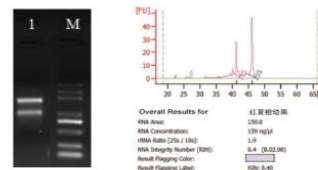
结果评价: 电泳有清晰的两条带, 2100结果显示基线平整, RIN值8.4, 证明提取的RNA完整性高, 可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类, 常规方法一直出现RNA降解情况, TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题, 是实验室的得力助手。

红夏橙幼果

提取方法: RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用: 二代测序、RT-qPCR

结果展示: 本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法: 上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉, 洗脱体积30 μl, RNA上样量为200 ng, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min. Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

结果评价: 电泳有清晰的两条带, 2100结果显示基线平整, RIN值8.4, 证明提取的RNA完整性高, 可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类, 常规方法一直出现RNA降解情况, TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题, 是实验室的得力助手。

磁珠法方案结果展示

样品	浓度 (ng/ μl)	260/280	260/230
1	74.23	1.92	1.74
2	96.81	1.89	1.68
3	80.16	1.88	1.74
4	82.17	1.93	1.78

土壤样本: 样本上样量 0.4-0.5 g, 洗脱体积: 100 μl

高通量方案结果展示

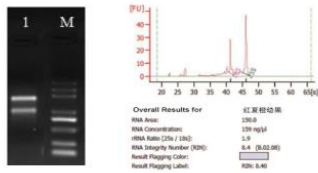
方法：从 PPT 直接粘贴 word 里，图片大小高 2.4”，宽 3.2”，图片居中排列。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

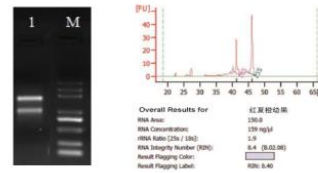
结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

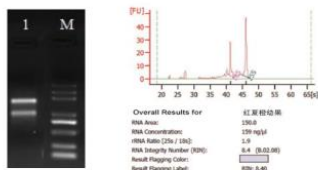
结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

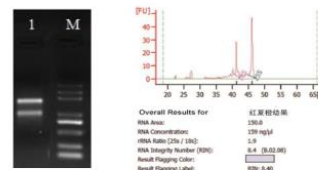
结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

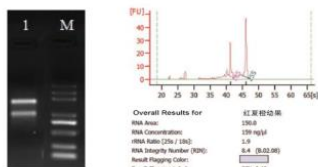
结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

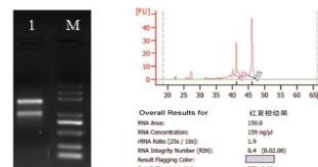
结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。

红夏橙 幼果

提取方法：RNAprep Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (DP441)

下游应用：二代测序、RT-qPCR

结果展示：本实验结果由 [中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所](#) 提供



实验方法：上样量为100 mg新鲜红夏橙幼果果肉，洗脱体积30 μl，RNA上样量为200 ng，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。Agilent 2100 Bioanalyzer检测结果为上样1 μl RNA。

结果评价：电泳有清晰的两条带，2100结果显示基线平整，RIN值8.4，证明提取的RNA完整性高，可用于下游的NGS建库实验。红夏橙幼果含有大量糖类，常规方法一直出现RNA降解情况，TIANGEN的试剂盒解决了困扰课题组已久的RNA提取问题，是实验室的得力助手。