

## 宏基因组核酸提取方案——土壤篇

### 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。

土壤由岩石风化而成的矿物质、动植物和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, 可纯化高质量核酸进行下游实验研究。

### 样本类型

黄土, 黑土, 红土, 花坛土, 花盆土, 农田土, 淤泥, 山林土, 根系土, 粉尘等

### 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; 腐殖质残留有对下游反应有很强的抑制作用, 会导致 PCR 等酶促反应的失败。
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。

### 样本保存

分装 50ml 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><a href="#">TGyrate Basic 涡旋混匀仪 (OSE-VX-01, TIANGEN)</a></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><a href="#">TGrinder H24 组织研磨均质仪 (OSE-TH-01, TIANGEN)</a></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，防止对下游反应的抑制作用。

## 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><a href="#">土壤基因组 DNA 提取试剂盒 (DP336)</a></u>	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><a href="#">磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP712)</a></u>	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><a href="#">磁力架 (OSE-MF-01, TIANGEN)</a></u> 。可整合不同平台仪器。
TGuide S32 配套方案	<u><a href="#">TGuide S32 磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP612)</a></u>	专为 <u><a href="#">TGuide S32 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S32, TIANGEN)</a></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。

<p>TGuide S96 配套方案</p>	<p><a href="#">磁珠法土壤和粪便基因组 DNA 提取试剂盒 (DP712)</a></p>	<p>可整合 <a href="#">TGuide S96 全自动核酸提取纯化仪 (OSE-S96, TIANGEN)</a>，一键启动，30min 即可实现 96 个样本的自动化核酸提取。</p>	<p>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。</p>
<p>注：<a href="#">红色</a>标出的 TIANGEN 产品可点击，直接了解产品相关信息</p>			

## 方案实验结果展示

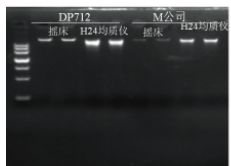
### 磁珠法方案结果展示

#### 土壤

**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 [天根生化科技\(北京\)有限公司](#) 提供



试剂盒	研磨方式	浓度 (ng/μl)	260/280	260/230
DP712	摇床振荡	18.4	1.91	1.7
		18.6	1.9	1.59
	H24研磨	30.2	1.83	1.84
		41.9	1.98	1.84
M公司	摇床振荡	10.4	3.05	0.83
		10.5	3.85	0.86
	H24研磨	13.3	2.77	1
		16	2.75	1.15

**实验方法：**使用DP712和竞品分别用摇床和H24均质仪进行前处理，提取500mg花园土，洗脱体积100μl，DNA上样量5μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6v/cm电泳30min

**结果评价：**电泳有清晰的一条带，证明提取的DNA完整性高，且H24均质仪的研磨效果远好于摇床。土壤通常富含多种杂质及腐殖质，常规方法一直出现腐植酸残留影响下游实验的情况。TIANGEN目前拥有成熟的土壤样本核酸提取方案，可提供高品质核酸进行下游各类研究。

### TGuide S32 配套方案结果展示

#### 土壤

**提取方法：**TGuide S32磁珠法土壤和粪便基因组DNA提取试剂盒 (DP612)

**下游应用：**二代测序、PCR

**结果展示：**本实验结果由 [上海某知名生物科技技术服务公司](#) 提供

样品编号	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

**实验方法：**使用DP612配合S32自动化核酸提取仪进行土壤样本提取，上样量为0.4-0.5g，洗脱体积100μl。

**结果评价：**4个样本提取结果均非常好，得率很高，且260/280和260/230的比值均说明提取的核酸纯度很好，可满足该客户下游实验需求。TIANGEN目前拥有成熟的土壤样本核酸提取方案，可提供高品质核酸进行下游各类研究。

#### 水底沉积土

**提取方法：**TGuide S32磁珠法土壤和粪便基因组DNA提取试剂盒 (DP612)

**下游应用：**二代测序、PCR

**结果展示：**本实验结果由 [南京大学环境学院](#) 提供

样品编号	浓度 (ng/μl)	260/280	260/230	样品编号	浓度 (ng/μl)	260/280	260/230
1	66.7	1.83	1.55	6	114.7	1.91	1.71
2	194	1.74	2.08	7	244.1	1.89	2.03
3	84.3	1.84	1.78	8	234.5	1.88	1.96
4	282	1.92	2.04	9	146.5	1.87	1.63
5	57.7	1.86	1.76	10	236.4	1.78	1.86

**实验方法：**使用DP612配合S32自动化核酸提取仪进行土壤样本提取，上样量为0.4-0.5g，洗脱体积100μl。

**结果评价：**10个样本提取结果均非常好，得率很高，且260/280和260/230的比值均说明提取的核酸纯度很好，可满足该客户下游实验需求。TIANGEN目前拥有成熟的土壤样本核酸提取方案，可提供高品质核酸进行下游各类研究。