植物及真菌核酸提取方案-多糖多酚 DNA 篇

背景介绍

植物核酸的提取是进行植物分子生物学研究的一个重要前提，高质量、具有生物学活性的核酸是下游相关分子生物学实验成败的关键。部分植物、真菌富含酚类化合物，多糖以及某些尚无法确定的次级代谢产物。酚类物质的含量会随着植物的生长而增加。在植物材料匀浆时，酚类物质会释放出来，氧化后使匀浆液变为褐色，影响后续核酸提取的实验效果。

TIANGEN 目前拥有一系列多糖多酚植物、真菌样本的核酸提取方案，可提供高品质核酸供进行下游各类研究。

样本特点

利用传统的 CTAB+酚氯仿方法提取的多糖多酚植物核酸样本含有较多的蛋白残留及多糖、酚类物质的污染，不利于下游实验。

样本类型

1. 叶片：草莓、棉花、梅花、辣椒、松树、马铃薯、番茄、大豆、葡萄、蕨类植物、蔷薇科植物、树木叶片、黄花棘豆等
2. 干粉：植物叶片干粉，植物种子干粉、豆粉、硅胶干燥的叶片等
3. 其他：真菌、苔藓等

样本保存

最好使用新鲜的样本，如不立刻进行 DNA 提取实验，请将所采集的植物新鲜样本放于-20°C或-80 °C保存，如需多次使用样本可提前将样本分为多份冻存，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（根、种子等）
组织研磨器法	简便省时，通量低	*TGrinder 电动组织研磨器套装 (OSEY30/Y40)* *TGrinder 第三代变速组织研磨器套装（OSE-Y50）*	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，	*TGrinder H24 组织研磨均质仪（OSE-TH-01，TIANGEN）*	样本数量相对较多，TGrinder H24 可同时研磨 24 个样本。

方法一：手工法前处理操作

1. 取植物新鲜组织约 100 mg 或干重组织约 30 mg，加入液氮充分碾磨。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有裂解液的离心管中，迅速颠倒混匀后，将离心管放在 70℃水浴 10 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

方法二：组织研磨器法前处理（根据样本量及类型选择合适的研磨器）

1. 用手握住研磨器的机身，把研磨杵伸入放有样品及裂解液的离心管中（建议裂解液体积不超过 150 μl）。
2. 用手指按住研磨器顶端的开关，研磨器开始工作。手指松开研磨器停止工作。

方法三：均质仪法前处理操作

1. 在 2 ml 离心管中加入植物、真菌样本 50-100 mg 和裂解液，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）。
2. 将离心管放在 65 ℃水浴 15 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 若缓冲液 GPS 有沉淀析出，可在 37℃水浴溶解，摇匀后使用。

方案介绍

TIANGEN 根据多糖多酚植物和真菌的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从不同样本类型中分离纯化高质量核酸。

方案分类	产品名称	产品特点	样本类型
柱法方案	多糖多酚植物基因组 DNA 提取试剂盒（DP360）	独特的沉淀溶液可以沉淀去除多糖多酚植物样本中的蛋白质、多糖以及酚类等杂质。提取的基因组 DNA 纯度高，质量稳定可靠。	**叶片：**海棠、桃树、芝麻、苹果、玉米、竹子，**种子：**玉米、小麦、**其他：**火龙果、香蕉果肉、红茶、松针、柳树茎

柱法方案	*植物基因组 DNA 提取试剂盒（DP305）*[1]	简单快速，1 h 内即可获得超纯的基因组 DNA。	**叶片：**草莓、棉花、梅花、辣椒、松树、马铃薯、番茄、大豆、葡萄、蕨类植物、蔷薇科植物、树木叶片、黄花棘豆，**干粉：**植物叶片干粉，植物种子干粉、豆粉、硅胶干燥的叶片，**其他：**真菌、苔藓
磁珠法方案	*磁珠法植物基因组 DNA 提取试剂盒（DP342）*	采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，整个过程安全、便捷，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。	小麦、松树、马铃薯、番茄、烟草、水稻 、大豆、玉米、棉花
TGuide S32 配套方案	*TGuide S32 磁珠法植物基因组 DNA 提取试剂盒（DP607）*	专为 *TGuide S32 全自动核酸提取纯化仪（YOSE-S32,TIANGEN）*研发的预分装磁珠法试剂盒，整个实验过程安全、便捷，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。	柏树、竹子、木槿、无花果、烟草、茶树、苹果、桃、海棠和火龙果等新鲜植物叶片，大豆、小麦等植物种子，苹果、牡丹等干燥植物叶片
TGuide M16 配套方案	*TGuide 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (OSR-M301)*	TGuide 植物基因组 DNA 提取试剂盒专为使用 *TGuide M16 核酸自动提取仪（OSE-M16，TIANGEN）*从植物中提取高纯度的 DNA。	柑橘、番木瓜、番茄、西瓜、过沟菜蕨、棕榈、欧薄荷、角苔、垂柳、樱花、兔儿菜、甜椒、绿豆、紫花苜蓿、赤豆、双孢菇
注：*红色*标出的 TIANGEN 产品可点击，直接了解产品相关信息			

使用 TIANGEN 试剂盒发表的文献列表

文献名	院所	年份	刊物名	IF
1.Embryonic epigenetic reprogramming by a pioneer transcription factor in plants	中科院上海生命科学研究院	2017	Nature	40.137

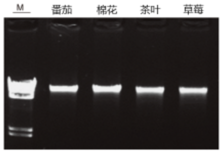
案实验结果展示

柱法方案结果展示

番茄、棉花、茶叶、草莓叶片

提取方法：植物基因组DNA提取试剂盒（DP305）
下游应用：二代测序、PCR
结果展示：本实验结果由 *天根生化科技（北京）有限公司* 提供

植物材料	提取量	平均DNA产量	OD_{260} / OD_{280}
小麦	100 mg	25-30 μg	1.7 - 1.9
松树	100 mg	25-30 μg	1.7 - 1.9
马铃薯	100 mg	4-6 μg	1.7 - 1.9
番茄	100 mg	10-15 μg	1.7 - 1.9
草莓	100 mg	10-15 μg	1.7 - 1.9
烟草	100 mg	20-25 μg	1.7 - 1.9
水稻	100 mg	10-25 μg	1.7 - 1.9
大豆	100 mg	20-30 μg	1.7 - 1.9
玉米	100 mg	20-30 μg	1.7 - 1.9
棉花	100 mg	10-25 μg	1.7 - 1.9

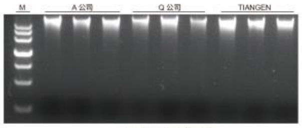


实验方法：取100 mg新鲜番茄、棉花、茶叶、草莓幼嫩叶片，洗脱体积100 μl，DNA上样量3 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。

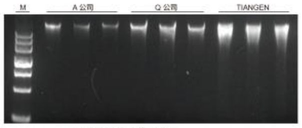
结果评价：棉花、番茄、茶叶及草莓等职务幼嫩叶片化学成分比较复杂,富含多糖、酚类及其他多种化学物质，采用TIANGEN DP305提取的DNA完整性较好，可以用于下游PCR等分子生物学实验

多糖多酚植物叶片

提取方法：多糖多酚植物基因组DNA提取试剂盒（DP360）
下游应用：二代测序、PCR、Southern blot
结果展示：本实验结果由 *天根生化科技（北京）有限公司* 提供



图：海棠叶片基因组提取电泳图



图：桃树叶片基因组提取电泳图

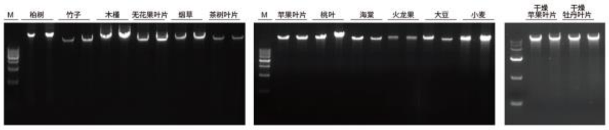
实验方法：用DP360与A和Q公司相应试剂盒按各说明书操作对100 mg海棠叶片和桃树叶片组织进行DNA提取。M：TIANGEN Marker D15000。洗脱体积为100 μl，琼脂糖凝胶电泳上样量为3 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。

结果评价：电泳有清晰的基因组DNA条带，琼脂糖凝胶电泳结果证明提取的DNA完整性高，可用于下游的靶基因分子克隆及NGS建库实验。TIANGEN的试剂盒解决了多糖多酚植物DNA的提取问题，是以多糖多酚植物为分子生物学实验研究对象工作人员及科研工作者的得力助手。

TGuide S32 配套方案结果展示

多糖多酚植物叶片及果实

提取方法：TGuide S32磁珠法植物基因组DNA提取试剂盒（DP607）
下游应用：二代测序、PCR
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：取100 mg新鲜叶片和30 mg干叶片通过液氮研磨成粉末后，洗脱体积100 μl，DNA上样量3 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。

结果评价：电泳有清晰的基因组DNA条带，琼脂糖凝胶电泳结果证明提取的DNA完整性高，可用于下游的靶基因分子克隆及NGS建库实验。TIANGEN的试剂盒解决了大量多糖多酚植物样本DNA的提取问题，是以多糖多酚植物为分子生物学实验研究对象工作人员及科研工作者的得力助手。

TGuide M16 配套方案结果展示

棉 花 叶 片 及 种 子

提取方法：TGuide 植物基因组DNA提取试剂盒(OSR-M301)
下游应用：二代测序、PCR
结果展示：本实验结果由 *天根生化科技（北京）有限公司* 提供

样本编号	A260/280	A260/230	Con（ng/μl）	DNA得量（μg）
棉花叶片	1.98	1.51	33.68	3.3
棉花叶片	1.94	1.62	30.72	3.1
棉花叶片	1.97	1.54	33.00	3.3
棉花种子	1.79	1.22	44.79	4.5
棉花种子	1.78	1.26	47.35	4.7
棉花种子	1.78	1.23	45.64	4.6

实验方法：取100 mg新鲜棉花叶片或30 mg干重棉花种子（去掉种皮），洗脱体积100 μl，采用紫外分光光度计法检测所提取DNA的浓度和比值。

结果评价：棉花叶片及种子化学成分复杂,富含多糖、酚类及其他多种化学物质，采用TGuide 植物基因组DNA提取试剂盒 (OSR-M301)提取的DNA完整性较好，可以用于下游PCR等分子生物学实验