

植物及真菌核酸提取方案-普通植物及真菌 RNA 篇

背景介绍

随着分子生物学技术的日益发展和不断更新，RNA 的提取已经成为植物学研究的一个重要基础实验。不论 RT-qPCR、Northern blot、cDNA 文库构建实验，还是转录组测序分析的 NGS 文库构建实验的顺利开展都需要纯度高、完整性好的总 RNA。与动物组织及细胞相比，植物细胞多了一层细胞壁，含有更多的多聚糖。除此之外，植物样本的类型也更加复杂，不同发育时期及不同类型的植物水分、多糖和酚类物质含量差别较大，甚至是同一植物的不同部位都有其各自的特点，如有的组织细胞壁较厚，有的木质化程度高，有的组织蛋白含量高，有的组织 RNA 则易于降解等。

非多糖多酚植物样本（如拟南芥、小麦、番茄、油菜、烟草、水稻、大豆、玉米等材料新鲜幼嫩的叶片）的组成成分相对简单，多糖，多酚含量较低，细胞壁较薄。针对此类样本，TIANGEN 公司提供了从组织破碎，到 RNA 纯化的完整解决方案，依据解决方案所提取的 RNA 不含多糖、多酚、蛋白和次级代谢物等杂质，为下游实验的顺利进行提供了强力保障。

样本特点

1. 有些植物木质化程度较高，如根茎等组织，这些都会导致 RNA 提取过程的困难
2. 次生代谢产物特殊的样本（如玉米的乳白色胚乳、小麦种子、红豆种子等或丝状真菌），不易分离纯化。

样本类型

植物根、茎、叶、花、果实、种子等。

样本保存

最好使用新鲜的样本，取样后立刻置于液氮中冻存，如不立刻进行 RNA 提取实验，请将液氮冻存的样本放于 -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	<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，便于手工操作
--------	--------------	--	---------------

方法一：手工法前处理

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。

注意事项

在收集材料样品准备提取 RNA 时，我们首先应该选择新鲜的材料，取样后迅速液氮研磨或匀浆处理，以保证我们所要提取材料中的 RNA 本身是完整的。

如果收集好材料后，不能马上进行 RNA 的提取工作，就需要先将材料保存好，冰冻材料保证低温储存，防止反复冻融，以保证材料中的 RNA 在保存过程中不被降解。

液氮低温保存法是一种常用的保存方法。先将材料在液氮中速冻后保存于 -80℃ 冰箱或直接保存在液氮中。

方案介绍

TIANGEN 根据植物的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从植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>RNAprep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒 (DP432)</u> ^{1,2}	可从植物组织中快速提取高质量总 RNA，快速，无毒，RNA 纯度高，无 DNA 残留。	样本数量较少，习惯于手工操作
柱法方案	<u>RNAsimple Total RNA Kit (DP419)</u>	提高了裂解液的裂解能力和提取的灵敏度，同时对硅基质膜的改进增强了对 RNA 的吸附能力，得到的 RNA 纯度更好，质量更高。	

溶液法方案	<u>TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂盒 (DP424)</u> ³	具有更强的裂解能力，更高的灵敏度，可从植物细胞、组织等样本中提取高质量总 RNA。	样本数量较少，习惯于手工操作，样本起始量较大的实验操作。
TGuide S32 整合方案	<u>TGuide S32 磁珠法植物组织总 RNA 提取试剂盒 (DP662-T1A)</u>	专为 <u>TGuide S32 全自动核酸提取纯化仪 (YOSE-S32, TIANGEN)</u> 研发的预分装磁珠法试剂盒。可实现样本的高通量自动化提取。	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 M16 整合方案	<u>TGuide 组织/细胞/植物总 RNA 提取试剂盒 (OSR-M610)</u>	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，从动物组织、细胞和植物组织中提取高纯度的 RNA，没有蛋白和其他杂质的污染，此系统很好的避免了样品间交叉污染的各种可能性。	日均可提取 100 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： <u>红色</u> 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	课题组	年份	刊物名	IF
1.Genetic variations in ARE1 mediate grain yield by modulating nitrogen utilization in rice	中国科学院遗传与发育生物学研究所	2017	Nature Communications	12.124
2.A PIF1/PIF3-HY5-BBX23 Transcription Factor Cascade Affects Photomorphogenesis	中国科学院植物研究所	2017	Plant Physiology	6.456
3.A new vesicle trafficking regulator CTL1 plays a crucial role in ion homeostasis.pdf	中科院上海植物生理生态研究所	2017	PLOS Biology	9.797

方案实验结果展示

柱法方案结果展示

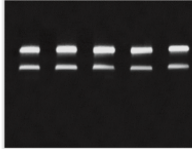
露草叶片

提取方法：RNAprep Pure植物总RNA提取试剂盒 (DP432)

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

样品	样品量	预期RNA得率
酵母	7 × 10 ⁷ cells	30-100 μg
新鲜烟草叶片	100 mg	73 μg
新鲜拟南芥叶片	100 mg	35 μg
新鲜玉米叶片	100 mg	25 μg
新鲜番茄叶片	100 mg	65 μg



实验方法：露草叶片上样量为80 mg，洗脱体积100 μl，RNA上样量为2-4 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min。

结果评价：琼脂糖凝胶电泳有清晰的两条带，结果证明提取的RNA完整性高，可用于下游的RT-qPCR及NGS建库实验。

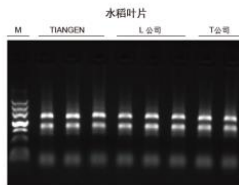
溶液法方案结果展示

水稻叶片

提取方法：TRNzol Universal总RNA提取试剂盒 (DP424)

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



实验方法：取100 mg水稻叶片，洗脱体积分别为80 μl、50 μl、30 μl，RNA上样量3 μl，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min，M：TIANGEN Marker III。

结果评价：TIANGEN公司TRNzol Universal总RNA提取试剂 (DP424) 对水稻叶片等样本均可提取得率高，纯度高，完整性好的RNA，与竞争公司L和产品结果相比，RNA质量较高，可以用于下游RT-qPCR等分子生物学实验及NGS文库构建应用。

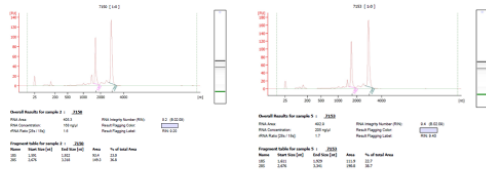
TGuide S32 整合方案结果展示

烟草叶片

提取方法：TGuide S32磁珠法植物组织总 RNA 提取试剂盒 (DP662-T1A)

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



实验方法：取50 mg烟草叶片液氮研磨为细粉后，使用TGuide S32自动核酸提取仪(OSE-M16)运行DP662程序，洗脱体积为50 μ l，采用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行 RNA 质量和完整性检测。

结果评价：TGuide S32磁珠法植物组织总 RNA 提取试剂盒 (DP662-T1A)对烟草叶片等样本可提取效率高，纯度高，完整性好的RNA，能够满足下游RT-qPCR等分子生物学实验及NGS文库构建应用。

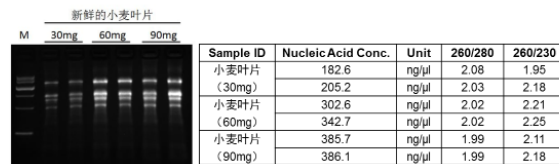
TGuide M16 整合方案结果展示

小麦叶片

提取方法：TGuide组织/细胞/植物总RNA提取试剂盒(OSR-M610)

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



M为TIANGEN DNA marker III，上样量为 μ g

实验方法：取30-90 mg小麦叶片液氮研磨为细粉后，使用TGuide M16自动核酸提取仪(OSE-M16)运行610程序，洗脱体积为60 μ l，RNA上样量3 μ l，1%琼脂糖凝胶电泳，6 v/cm电泳20 min，M：TIANGEN Marker III。

结果评价：TIANGEN公司TGuide组织/细胞/植物总RNA提取试剂盒(OSR-M610)对小麦叶片等样本均可提取效率高，纯度高，完整性好的RNA，可以用于下游RT-qPCR等分子生物学实验及NGS文库构建应用。