

植物及真菌核酸提取方案-非多糖多酚 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> 研发的预分装磁珠发试剂，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

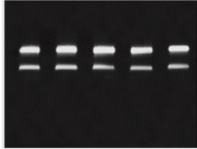
露草叶片

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。

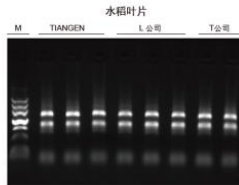
溶液法方案结果展示

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。

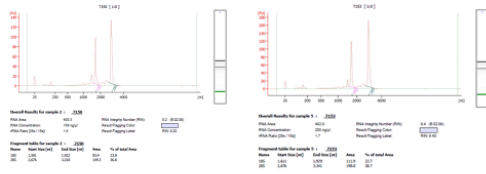
TGuide S32 整合方案结果展示

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。

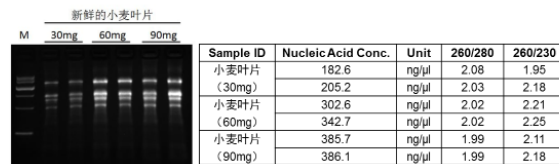
TGuide M16 整合方案结果展示

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。