【生物工程 / Bioengineering】

一种植物基因组 DNA 快速提取方法的建立与评估

李 琳^{1,2}, 罗淋淋^{1,2,3}, 罗光宇^{1,2,3}, 莫蓓蓓^{1,2}, 刘 琳^{1,2}

1) 深圳大学生命与海洋科学学院, 广东省植物表观遗传学重点实验室, 广东深圳 518060;

2) 深圳大学龙华生物产业创新研究院, 广东深圳 518060; 3) 深圳大学物理与光电工程学院, 广东深圳 518060

摘 要: 植物基因组脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的提取是植物分子实验的基础,但随着样本数量的增加,基因组 DNA 的提取成为植株基因型鉴定以及单核苷酸多态性检测等分子实验的限速环节. 为解决现有技术中提取植物基因组 DNA 过程繁琐、耗时耗力的问题,从提取液配方和提取条件等方面改良常规快速植物基因组 DNA 提取法,缩短了样本制备时间并简化了提取步骤,改良后每个样本 DNA 制备需时不到 90 s,同时采用 96 孔板和配套设施显著提高了实验通量. 该方法对植物样本的状态要求低、扩增效率高、成本低,适用于拟南芥、水稻和玉米等多种植物基因组 DNA 的提取与聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增实验,尤其适用于大样本量的规模化基因型鉴定.

关键词: 分子生物学; 基因组脱氧核糖核酸; 快速提取; 聚合酶链式反应; 水稻; 拟南芥; 基因型鉴定; 单核苷酸多态性分析; 简单重复序列标记分析

中图分类号: Q947.1

文献标志码: A

doi: 10.3724/SP.J.1249.2020.01001

Establishment and evaluation of a method for rapid extraction of plant genomic DNA

LI Lin^{1,2}, LUO Linlin^{1,2,3}, LUO Guangyu^{1,2,3}, MO Beixin^{1,2}, and LIU Lin^{1,2}

1) College of Life Sciences and Oceanography, Guangdong Provincial Key Laboratory for Plant Epigenetics,

Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, P. R. China

2) Longhua Bioindustry and Innovation Research Institute, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, P. R. China

3) College of Physics and Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong Province, P. R. China

Abstract: The extraction of plant genomic deoxyribonucleic acid (DNA) is the basis for plant molecular experiments. However, as the number of plant samples increases, genomic DNA extraction becomes the rate-limiting step in molecular experiments such as the identification of plant genotypes and single nucleotide polymorphisms detection. Regular DNA extraction is usually complicated and time-consuming and effort-consuming. To cope with these problems, we improve the conventional rapid plant genomic DNA extraction method from the aspects of extraction buffer and extraction conditions to further shorten the sample preparation time and simplify the extraction steps. After optimization, the preparation of each DNA sample takes less than 90 s, and adoption of 96 wells plates and related facilities significantly improve experimental throughput. This system has low requirements for the status of plant samples, and has high amplification efficiency at low cost. Besides, this system is suitable for a variety of plant

Received: 2018-11-01; **Revised:** 2019-05-17; **Accepted:** 2019-06-05

Foundation: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0101803); National Natural Science Foundation of China (31600982); Guangdong Innovation Research Team Fund (2014ZT05S078); Shenzhen High-level Talents Research Fund (827/000256); Shenzhen University Research Fund (2016095)

Corresponding author: Assistant professor LIU Lin. E-mail: linliu@szu.edu.cn

Citation: LI Lin, LUO Linlin, LUO Guangyu, et al. Establishment and evaluation of a method for rapid extraction of plant genomic DNA [J]. Journal of Shenzhen University Science and Engineering, 2020, 37(1): 1-8. (in Chinese)

species such as *Arabidopsis thaliana* L., rice (*Oryza sativa* L.), and maize (*Zea mays* L.) for genomic DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR) amplification, especially for genotyping experiments that require a large number of samples.

Key words: molecular biology; genomic deoxyribonucleic acid; rapid extraction; polymerase chain reaction; *Oryza sativa* L.; *Arabidopsis thaliana*; genotyping; single nucleotide polymorphisms analysis; simple sequence repeat analysis

植物基因组脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 的提取是分子生物学实验的基础, 然而植物基因型鉴定等需要大样本量基因组 DNA 的分子生物学实验, 往往需要耗费大量时间和精力进行 DNA 提取. 传统的 DNA 提取方式, 如十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) 法^[1-2]、十六烷基三甲基溴化铵 (cetyltrimethylammonium ammonium bromide, CTAB) 法^[3] 和提取试剂盒等都存在步骤繁琐、耗时过长和试剂有毒有害等问题, 且在提取过程中还会产生大量废液, 不能满足大批量实验和现代分子生物学发展的要求. 现已报道了多种优化的快速基因组提取方法, 常规做法是更换个别试剂或简化特定步骤^[4-5], 但对大规模实验来说, 这些方法仍较繁琐, 且适用面较窄, 主要用于水稻^[6-7] 和拟南芥^[8] 等少数模式植物. 为此, 本研究借鉴已有的快速提取植物基因组 DNA 的方法^[9-14], 经过大量实验和对体系不断的调整优化, 最终确立了一套适用于聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 鉴定的植物基因组 DNA 快速提取方法. 该方法只需将少量植物叶片 (以水稻为例, 取样量仅为 3 mm × 5 mm ~ 3 mm × 10 mm) 放入 96 孔板中, 加入 120 ~ 150 μ L 提取液和 2 ~ 3 粒直径为 2 mm 的氧化锆珠, 在高通量组织研磨仪上震荡破碎 1 ~ 2 min 后得到植物提取液, 即可直接应用于 PCR 反应. 本方法成本低、PCR 产物扩增效率高, 且结果稳定, 适于多种处于不同时期和状态的植物基因组 DNA 的提取, 尤其适于大样本量的实验并能显著缩短实验时间.

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究以水稻 (*Oryza sativa* L.) 日本晴、玉米 (*Zea mays* L.) B73、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) Columbia 生态型、马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 成熟期的叶片为实验材料. 同时, 将水稻和拟南芥的地上及地下部分分别取材进行实验.

1.2 提取缓冲液的配置

CTAB 法提取缓冲液配方及提取方法见文献 [14]. 本实验所使用 DNA 10 × 提取缓冲液母液按 100 mmol/L Tris (pH = 9.5)、5 mmol/L 乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)、5 mmol/L NaCl 和 1 mmol/L KCl 配方配置, 使用时使用去离子水稀释至 1 × 即可. 该浓缩型提取液储存于 4 °C 冰箱可保存 6 ~ 10 个月.

1.3 植物基因组 DNA 的提取和检测

用剪刀剪取 3 mm × 5 mm ~ 3 mm × 10 mm 的植物叶片, 置于已加入 2 ~ 3 颗直径为 2 mm 的氧化锆珠和 120 ~ 150 μ L 提取缓冲液的 96 孔板中. 将叶片压于管底, 勿紧贴管壁. 盖好配套硅胶盖后上下摇晃检查密封性, 在高通量组织研磨仪 (上海净信 TissueLyser-192) 上以 60 Hz 频率震荡破碎 10 ~ 120 s (叶片越新鲜幼嫩振荡时间越短), 再以 4 000 r/min 速率低速离心 60 s (离心目的是沉淀杂质, 该步骤也可省略), 缓慢揭去硅胶盖, 清理 96 孔板表面防止样品交叉污染, 所得上清可直接用于 PCR 扩增或于 -20 °C 储存. 如样本数目较少, 可选择 0.2 mL 八联排 PCR 管或 1.5/2.0 mL 的离心管作为提取容器, 但需根据要求调整研磨条件, 研磨时间过久可能击碎离心管壁, 导致样品流失.

得到植物基因组 DNA 后, 使用 Invitrogen Qubit 3.0 荧光定量仪和 Qubit dsDNA HS Assay 试剂盒 (Q32854) 对 DNA 浓度进行测定, 检测方法参照说明书. 同时, 本研究从 DNA 的保存时间、植物组织部位和 DNA 完整度方面检测了该提取体系的适用性, 并对结果的可靠性进行评测.

1.4 PCR 反应体系和条件

在实验操作过程中, PCR 反应体系可根据物种和实验用途进行稍作调整. 一般情况下, 扩增所用的模板量为 0.5 ~ 1.0 μ L, 可根据不同植物类型及实验需求进行适当调整. 本实验使用的 Taq 酶为 Vazyme 2 × Taq master mix, 扩增体系为: 10 × PCR buffer: 2 μ L; 引物 (10 nmol/L): 0.8 ~ 1.0 μ L; dNTP (10 mmol/L): 0.5 ~ 1.0 μ L; DNA 提取液: 0.5 ~ 1.0 μ L; Taq 酶: 0.3 ~ 0.5 μ L; 双蒸水补足

至 20 μ L. PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 ~ 38 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min. 对于扩增引物的设计无特殊要求, 遵循正常扩增反应的设计规则即可. 由于使用该方法提取的植物基因组 DNA 浓度较低, 建议扩增循环数设为 35 个以上, 以保证获得足量的产物.

1.5 SNP 和 SSR 检测

以水稻为例, 通过 RiceVarMap (<http://rice-varmap.ncpgr.cn/v1/contact/>) 查找单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点, 设计引物对多个水稻品种进行 PCR 鉴定和测序; 通过 Gramene (http://archive.gramene.org/markers/microsat/50_ssr.html) 提供的水稻简单重复序列标记 (simple sequence repeat, SSR) 标准引物序列, 随机

挑选引物对多个水稻品种进行 PCR 鉴定和琼脂糖凝胶电泳检测. 所检测的水稻品种信息见表 1, 引物设计和对应基因信息见表 2.

表 1 SNP 和 SSR 检测所用水稻品种信息表
Table 1 Information of *Oryza sativa* L. varieties used for SNP and SSR detection

编号	品种名称	类型	DNA 序列号
1	CAU2	粳稻	CX354
2	CAPATAZ::GERVEX 521-C1	粳稻	IRIS 313-8084
3	晚实	粳稻	B005
4	矮陆羽	粳稻	B169
5	80 UPLA::GERVEX 164-C1	粳稻	IRIS 313-8062
6	金南特 B	籼稻	B247
7	圭 630	籼稻	B242
8	L301B	籼稻	B150

表 2 检测引物表
Table 2 Primers used for detection

编号	物种	引物序列	基因信息
1	Zm-F	CATCGTCTCCAGCACTCGCAGG	MIR1432
	Zm-R	CAGTGAGCCAGTGACAGACAGAG	
2	St-F	CGGAGCTCTGGTGCCGTACAGTTGTTGC	POT32
	St-R	CGGGATCCGAAGTCCCTTCACGATCATA	
3	At-F	AGGTTGAATCATCCGACACC	UBI5
	At-R	TGAAGCGTCGATTCCTTCTG	
4	Os-F	CTTCCCTCTGTTATTTCC	MIR390
	Os-R	ATGTGCTGGCTTCTTTAT	
5	Os p1-F	AATCCAGATATTGTGCTTCC	ARF2
	Os p1-R	ATTTCTTGCCTCAGTCGC	
6	Os p2-F	GGAAGAGTATAAAACCAA	NC008401
	Os p2-R	CAAATGATGTCAAAGGAAC	
7	Os p3-F	CTTCCCTCTGTTATTTCC	PRPS1
	Os p3-R	ATGTGCTGGCTTCTTTAT	
8	Os p4-F	AGTCATTAGCCCATCCAA	DXO
	Os p4-R	CAGCATTAGTCCCATCTTC	
9	Os p5-F	CGGAGCTCTGGTGCCGTACAGTTGTTGC	PRPS1
	Os p5-R	CGGGATCCGAAGTCCCTTCACGATCATA	
10	Os p6-F	ATTTGGAGCCGTATCTTG	PHYC
	Os p6-R	CGGGAAGTCTACCAGGAC	
11	At p1-F	TCGTTGGAGACTACTTGCT	PKS
	At p1-R	CGGATGATGTTAGGATGATTG	
12	At p2-F	CAGCAGGGTGGGCTCTGTCGTATTTAGGTTCTTG	RPL23A
	At p2-R	TCATCTTAGAATCAATGCCACCAATAATAGTC	
13	At p3-F	CTGGAACATGATGGATTGG	RPL23A
	At p3-R	GATGATGCCGATCTTGTAG	

(续表 2)

编号	物种	引物序列	基因信息
14	<i>At</i> p4-F	AATTGATGAATCAGGCCACTG	<i>RP L5B</i>
	<i>At</i> p4-R	AGAATCCCCATTTCCACAAG	
15	<i>At</i> p5-F	AGTTATAAGGTCTCTTCGTTGATTAGCAG	<i>ATTEM1</i>
	<i>At</i> p5-R	GGTACAGCAAAAATTACACTAAGAGGCAAG	
16	<i>At</i> p6-F	CGGGGTACCTCACGGCCATTGACCATTC	<i>P3K</i>
	<i>At</i> p6-R	CCGCTCGAGTCAAACTGACAAGAAGTCCCC	
17	SNP-P1-F	AGCGCAATGTGTTCGAGGT	<i>ARF2</i>
	SNP-P1-R	ATGCGTTATTTCGGTGAACAAAGT	
18	SNP-P2-F	CATCGTCTCCAGCACTCGCAGG	<i>PHYC</i>
	SNP-P2-R	CGGGATCCGAAGTCCCTTCACGATCATA	
19	SSR-RM162 * -F	GCCAGCAAAACCAGGGATCCGG	AP014962
	SSR-RM162 * -R	CAAGGTCTTGTGCGGCTTGCGG	
20	SSR-RM489-F	ACTTGAGACGATCGGACACC	NC029258
	SSR-RM489-R	TCACCCATGGATGTTGTCAAG	
21	SSR-RM154 * -F	ACCCTCTCCGCTCGCCTCCTC	AP014958
	SSR-RM154 * -R	CTCCTCCTCCTGCGACCGCTCC	

1.6 引物信息

表 2 列出了实验所用的引物。其中, 编号 1~4 的引物用于检测不同物种中利用快速提取方法得到的基因组 DNA 保存时间的实验; 编号 3~4 的引物同时也用于检测在拟南芥和水稻中快速提取法所得基因组为模板的 PCR 扩增产物测序质量和对植物不同组织的适用性实验; 编号 5~16 的引物用于检测快速提取法所得植物基因组 DNA 的完整性实验; 编号 17~21 的引物用于检测快速提取法对 SNP 和 SSR 分析适用性实验。

2 结果

2.1 快速提取法获得的 DNA 质量满足 PCR 扩增及测序鉴定的要求

用本研究提取法对水稻、拟南芥、玉米和马铃薯进行测试。由于采用微量提取方法, 样品的取样量少, 所得基因组 DNA 浓度低, 难以被琼脂糖凝胶电泳检测到。通过 Qubit 荧光定量仪可对提取所得基因组 DNA 进行定量, 测定浓度为 3~4 ng/ μ L (150 μ L 体系), 总质量为 450~600 ng。

该快速提取方法对 PCR 体系无特殊要求, 采用常规体系即可。由于植物基因组 DNA 快速提取法是粗提 DNA, 未经纯化, 为保证检测结果准确、稳定且可重复, PCR 添加模板量不宜太多。20 μ L 体系中, 不同物种 PCR 反应模板量建议请扫描论文末

页右下角二维码查看表 S1。

拟南芥和水稻样品利用本研究方法和 CTAB 法所提取 DNA 为模板的 PCR 扩增测序结果请扫描论文末页右下角二维码见图 S1。4 个物种利用两种提取法所做的 PCR 扩增结果无明显区别, 所得测序峰图都尖锐且单一, 表明两种提取法所得基因组 DNA 的 PCR 扩增产物测序质量相似。利用该方法所得的基因组 DNA 质量完全满足测序鉴定等分子实验的要求, 可进行进一步的实验研究。

2.2 快速提取法获得的 DNA 可长时间保存

以拟南芥、水稻、玉米和马铃薯为材料, 利用快速提取法获得基因组 DNA, 对提取当天的样品和 -20 $^{\circ}$ C 下保存了 7、30、60 和 120 d 的样品, 分别进行 PCR 检测, 并设置 CTAB 法提取的 DNA 作为对照, 结果如图 1 所示。其中, bp 为碱基对 (base pair)。从图 1 可见, 所有样品都有清晰整齐的条带, 表明该方法所得基因组 DNA 可在 -20 $^{\circ}$ C 下完整保存至少 4 个月, 能够满足一般分子生物学实验的需要。

2.3 快速提取法的适用性

2.3.1 快速提取法适用于植物不同组织和不同生长状态的叶片

为检测该基因组提取方法对植物不同组织和生长状态的适用性, 本研究以拟南芥和水稻不同组织和不同状态的叶片为材料, 提取基因组 DNA 进行

图1 利用植物基因组DNA快速提取法获得的植物基因组DNA在不同保存时间下的PCR检测

Fig.1 PCR detection of plant genomic DNA obtained by rapid extraction method for different storage times

PCR 扩增检测, 结果如图2. 本研究选取了叶片状态相对较差的老叶、黄叶及根部作为实验材料, 对样品研磨后进行PCR检测. 结果显示, 所有样本皆能成功提取到基因组DNA, 且检测条带明亮、单一, 表明该方法适用于植物不同组织和生长状态基因组DNA的提取鉴定.

2.3.2 快速提取法获得的基因组DNA完整性高

使用本研究方法获得的PCR产物片段都少于1 000 bp, 为验证所提取基因组DNA的完整性, 以拟南芥和水稻为例, 通过扩增不同长度的DNA片段进行验证, 如图3. 分别选取拟南芥和水稻多个不同基因, 设计引物扩增100 (p1)、450 (p2)、750 (p3)、1 000 (p4)、2 000 (p5)和4 000 bp (p6)基因片段, PCR检测结果显示所有条带清晰单一稳定, 表明利用本研究方法所提取的基因组DNA具有较高完整性, 适用于各种长度片段的常规扩增实验.

2.3.3 快速提取法适用于SNP和SSR分析

为进一步检测该快速提取方法得到的基因组DNA是否适用于SNP和SSR分析, 本研究针对实验室现有的多个水稻品种设计引物进行检测(水稻品种和引物相关信息见表1和表2).

选取8个水稻品种进行检测, 图4(a)和图4(b)分别展示了使用快速提取法和CTAB法得到的粳稻CAU2和籼稻金南特B两个品种基因组DNA对ARF2和PHYC基因的PCR扩增测序结果, 限于篇幅, 其他6个水稻品种的SNP测序结果请扫描论

(a) 拟南芥和水稻不同状态的叶片和根

(b) 拟南芥和水稻基因组DNA快速提取的PCR鉴定结果

M为TIANGEN Marker II; TL为嫩叶; DL为老叶; YL为黄叶; Rt为根; C为采用CTAB法对照

图2 植物基因组DNA快速提取法对水稻、拟南芥不同状态叶片和不同组织部位的适用性检测

Fig.2 (Color online) The applicability of rapid extraction method for plant genomic DNA in different leaf stages and tissues of *Oryza sativa* L. and *Arabidopsis*

(a) 拟南芥 (b) 水稻

M为Trans5K DNA Marker; 1~6分别为p1—p6

图3 植物基因组DNA快速提取法所得植物基因组DNA完整性检测

Fig.3 Detection of the integrity of plant genomic DNA extracted by the rapid extraction method

文末页右下角二维码见图S2. 其中, 序列上方数字为此段序列在基因中的位置. 结果显示, 检测的不同水稻品种在该基因中的单核苷酸突变与在RiceVarMap提供的基因突变位点相同, 用CTAB法提取的植物基因组DNA和快速提取方法得到的测序结果无差异. 针对SSR分析实验, 参考Gramene网站 (http://archive.gramene.org/markers/microsat/50_ssr.html) 提供的水稻SSR标记标准引物序列,

随机挑选 3 对引物对 8 个水稻品种进行 PCR 鉴定, 结果如图 5. 琼脂糖凝胶结果显示, 不同品种之间的 SSR 序列是有区别的, 且用 CTAB 法提取的植物

基因组 DNA 和本研究提出的快速提取方法得到的结果无差异, 表明该植物基因组 DNA 快速提取法稳定可靠, 适用于 SNP 和 SSR 的分析检测.

图 4 快速提取法和 CTAB 法获得的水稻基因组 DNA 的 SNP 检测结果

Fig. 4 SNP analysis of *Oryza sativa* L. using plant genomic DNA extracted by rapid extraction method

图 5 利用快速提取法获得的水稻基因组 DNA 进行 SSR 分析

Fig. 5 SSR analysis of *Oryza sativa* L. using plant genomic DNA extracted by rapid extraction method

3 结论和讨论

在实验方法不断优化调整的过程中,总结出如下植物基因组DNA快速提取法在操作中的注意事项:①由于样品采取量少,植物组织未完全破碎,提取到的基因组DNA浓度与CTAB法相比较低,使用琼脂糖凝胶电泳检测微量基因组DNA时无明显条带产生,但并不影响PCR检测;②植物叶片薄小易紧贴在管壁,氧化锆珠可能不易完全接触并破碎,因此样品破碎后需检查破碎情况,个别样本可能需重复破碎操作,根据实际情况选择是否需要离心,针对比较干燥不易破碎的样品,可先加水浸泡后再操作;③在揭去硅胶盖前应先离心,将管壁上的液体离心至管底,同时揭开硅胶盖时须缓慢小心;④在PCR过程中吸取模板时要尽量吸取上清,避免吸到杂质,以保证不影响Taq酶的活性和PCR产物的质量;⑤对于不同的物种和同一物种不同部位的基因组DNA提取,可根据实际情况调整氧化锆珠数量、高通量组织破碎仪频率及破碎时间等参数,以制备高质量的DNA;若所得样品较少,可使用八联管代替96孔板,由于材料不同,破碎结果差别也较大,用八联管经过高通量组织研磨仪与96孔板相比,样品破碎程度更好;⑥由于不同物种组织的特异性,取样量和破碎时间稍有差别,做大批量实验前可先做预实验来确定最佳实验方案;⑦为保证实验的准确性,样品应避免多次反复冻融,减小对基因组DNA保存时间的影响。

本研究提出的基因组DNA快速提取方法适用于多种植物以及植物不同组织和生长状态基因组DNA的提取,且提取到的基因组DNA片段完整,PCR扩增结果准确且重复性好。该植物基因组DNA快速提取法可大批量、快速的对多种植物进行基因型鉴定和品种鉴定,利用96孔板操作可提高每批次样品检测的通量。与CTAB法相比,该方法操作步骤简单、耗时少,不需要使用氯仿等有毒有害的有机溶剂,对样本的质量要求较低,所需样本量少,可大幅节约时间和物质成本,提高工作效率。与XU等^[15-18]提出的植物基因组DNA快速提取方法相比,本方法利用96孔板和配套的硅胶盖能够提高检测通量,同时减少交叉污染。本研究对所提基因组DNA的质量、保存时间和片段完整性进行了检测,并与CTAB法提取结果对比,确定两种方法的扩增结果无明显差异。利用本研究方法提取不

同植物物种和不同组织的基因组DNA,检测结果均显示良好,表明该方法对不同植物物种和不同组织具有普遍适用性,可满足大多数实验的要求。但该体系也存在一定的局限性,除本研究所检测的水稻、玉米、拟南芥和马铃薯4个物种,我们也在番茄(*Solanum lycopersicum* L.)、花生(*Arachis hypogaea* L.)、白菜(*Brassica rapa* L.)、大豆(*Glycine max* L.)等物种中利用此方法提取了它们的基因组DNA,但实验重复性不理想。因此,针对组织中酚和糖等含量较高植物,仍需进一步优化实验条件^[19-20],以期提高结果的稳定性。通过调整和优化提取体系,该方法有望用于更多的植物物种,为遗传多样性研究和植物基因型鉴定等基础研究提供有效技术手段。

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2016YFD0101803);国家自然科学基金资助项目(31600982);广东省创新创业团队资助项目(2014ZT05S078);深圳市高端人才科研基金资助项目(827/000256);深圳大学科研基金资助项目(2016095)

作者简介:李琳(1994—),深圳大学硕士研究生。研究方向:植物表观遗传学。E-mail: 15513820966@163.com

引文:李琳,罗淋淋,罗光宇,等.一种植物基因组DNA快速提取方法的建立与评估[J].深圳大学学报理工版,2020,37(1):1-8.

参考文献 / References:

- [1] 单志,吴宏亮,李成磊,等.改良SDS法提取多种植物基因组DNA研究[J].广东农业科学,2011,8: 113-115.
SHAN Zhi, WU Hongliang, LI Chenglei, et al. Improved SDS method for general plant genomic DNA extraction [J]. Guangdong Agricultural Science, 2011, 8: 113-115. (in Chinese)
- [2] SIKAK C, KEFELA T, ADOUKONOU-SAGBADJA H, et al. A simple and efficient genomic DNA extraction protocol for large scale genetic analyses of plant biological systems [J]. Plant Gene, 2015, 1: 43-45.
- [3] 李金璐,王硕,于婧,等.一种改良的植物DNA提取方法[J].植物学报,2013,48(1):72-78.
LI Jinlu, WANG Shuo, YU Jing, et al. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2013, 48(1): 72-78. (in Chinese)
- [4] 丁丽艳,何宝国,刘宇,等.植物基因组DNA提取方法综述[J].现代畜牧科技,2017,32(8):6-8.
DING Liyan, HE Baoguo, LIU Yu, et al. A review of plant genomic DNA extraction methods [J]. Modern Animal Husbandry Science and Technology, 2017, 32(8): 6-8. (in Chinese)

- [5] 陈林杨, 宋敏舒, 查红光, 等. 一种改良的植物基因组 DNA 通用提取方法[J]. 植物分类与资源学报, 2014, 36: 375-380.
CHEN Lingyang, SONG Minshu, ZHA Hongguang, et al. A modified protocol for plant genome DNA extraction [J]. Plant Diversity and Resources, 2014, 36: 375-380. (in Chinese)
- [6] 王慧娜, 初志战, 马兴亮, 等. 高通量 PCR 模板植物基因组 DNA 制备方法[J]. 作物学报, 2013, 39: 1200-1205.
WANG Huina, CHU Zhizhan, MA Xingliang, et al. A high through-put protocol of plant genomic DNA preparation for PCR [J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39: 1200-1205. (in Chinese)
- [7] 余海霞, 罗 聪, 徐 趁, 等. 一种简单高效提取高质量转基因拟南芥和烟草 DNA 的方法[J]. 分子植物育种, 2016, 14: 1436-1440.
YU Haixia, LUO Cong, XU Chen, et al. A simple and efficient method for high quality DNA extraction from transgenic *Arabidopsis* and *Tobacco* [J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14: 1436-1440. (in Chinese)
- [8] 汪秀峰, 杨剑波, 向太和, 等. 一种叶片直接用作 PCR 扩增的新方法及其应用[J]. 中国水稻科学, 2002, 16: 67-70.
WANG Xiufeng, YANG Jianbo, XIANG Ttaihe, et al. A new method for PCR reaction from alkali-treated rice leaf tissues [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2002, 16: 67-70. (in Chinese)
- [9] 赵红霞, 谢 攀, 黄志坚, 等. 一种改良的水稻总 DNA 提取方法[J]. 湖北大学学报, 2006, 12: 389-392.
ZHAO Hongxia, XIE Pan, HUANG Zhijian, et al. An improved method of extracting rice genomic DNA [J]. Journal of Hubei University, 2006, 12: 389-392. (in Chinese)
- [10] CHEN Wenyue, CUI Hairui, BAO Jinsong, et al. A simplified rice DNA extraction protocol for PCR analysis [J]. Rice Science, 2006, 13: 67-70.
- [11] DELLAPORTA S L, WOOD J, HICKS J B. A plant DNA miniprep: version II [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1983, 1(4): 19-21.
- [12] 迟 婧, 耿丽丽, 高继国, 等. 植物叶片基因组 DNA 快速提取方法[J]. 生物技术通报, 2014, 9: 51-57.
CHI Jing, GENG Lili, GAO Jiguo, et al. A rapid and simple method for DNA extraction from plant leaves [J]. Biotechnology Bulletin, 2014, 9: 51-57. (in Chinese)
- [13] 王 兰, 龙云铭, 刘耀光. 一种用于 PCR 的植物基因组 DNA 快速制备方法[J]. 分子植物育种, 2009, 7: 425-428.
WANG Lan, LONG Yunming, LIU Yaoguang. A method for rapid preparation of plant genomic DNA for PCR analysis [J]. Molecular Plant Breeding, 2009, 7: 425-428. (in Chinese)
- [14] SARWAT M, NEGI M S, LAKSHMIKUMARAN M, et al. A standardized protocol for genomic DNA isolation from *Terminalia arjuna* for genetic diversity analysis [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2006, 9(1): 86-91.
- [15] XU Pingli, ZHAO Jinping, MENG Jingjing, et al. A rapid DNA extraction method for PCR detection of *Arabidopsis thaliana* [J]. Agricultural Science Technology, 2010, 11: 41-42.
- [16] SUN Chuan, HE Yinghong, CHEN Gang, et al. A simple method for preparation of rice genomic DNA [J]. Rice Science, 2010, 17(4): 326-329.
- [17] 高玉峰, 张 攀, 郝晓敏, 等. 一种快速提取玉米大群体基因组 DNA 的方法[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16: 2-36.
GAO Yufeng, ZHANG Pan, HAO Xiaomin, et al. A rapid DNA extraction method for large maize populations [J]. Journal Chinese Agricultural University, 2011, 16: 32-36. (in Chinese)
- [18] 李建武, 巩迎春. 马铃薯叶片基因组 DNA 提取方法比较研究[J]. 甘肃农业科技, 2015, 8: 25-28.
LI Jianwu, GONG Yingchun. Study on comparison of methods to extract genomic DNA from potato leaves [J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2015, 8: 25-28. (in Chinese)
- [19] SUDAN J, RAINA M, SINGH R, et al. A modified protocol for high-quality DNA extraction from seeds rich in secondary compounds [J]. Journal of Crop Improvement, 2017, 31(5): 637-647.
- [20] LIANG Huabing, DENG Ya, WANG Chuntai, et al. A high-throughput DNA extraction method from rice seeds [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2017, 30(1): 32-35.

【中文责编: 英 子; 英文责编: 艾 琳】

补充材料