

# 紫叶酢浆草 DNA 的提取方法比较

侯艳霞<sup>1</sup>, 汤浩茹<sup>2</sup>, 张 勇<sup>2</sup>, 陈 清<sup>2</sup>, 吉 丽<sup>2</sup>

(1. 山西林业职业技术学院 园艺系, 山西 太原 030009; 2. 四川农业大学 园艺学院, 四川 雅安 625014)

**摘要:**为了提取高质量的紫叶酢浆草 DNA, 以紫叶酢浆草茎段及叶片为材料, 比较了 5 种方法对其 DNA 提取的影响。结果表明: 用 SDS 法、改良 CTAB 法和核 DNA 法提取出的酢浆草 DNA 质量和得率都优于高盐低 pH 法和 CTAB 区室法, 从酢浆草叶片中提取的 DNA 质量和得率优于从茎段中提取的。综合分析可知, 以紫叶酢浆草叶片为材料, 采用核 DNA 法提取效果最佳。

**关键词:**酢浆草; DNA 提取方法; DNA 质量检测

中图分类号: S688.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2014)07-0018-03

紫叶酢浆草(*Oxalis triangularis*), 又称红叶酢浆草、三角紫叶酢浆草<sup>[1]</sup>, 为多年生宿根草本花卉。由于其植株姿态俊美, 叶形奇特, 且叶色和花色的色彩对比感强, 成为深受人们喜爱的室内盆栽植物, 也是城市园林应用中一种优异的彩叶绿化植物。此外, 紫叶酢浆草中丰富的天然色素极具开发前景, 而且全草可入药<sup>[2-3]</sup>, 因而目前人们对该植物的需求量日益增多, 关于酢浆草的研究也逐渐展开。

利用分子生物学方法开展紫叶酢浆草多样性研究, 可为进一步选育优良种质资源提供依据。但基因组 DNA 的分离及其提取质量是进行基因组多样性分析的关键。由于紫叶酢浆草植物组织细胞内含有较多的多糖、色素、蛋白质及未知的次生代谢产物, 而且这些物质在酢浆草不同部位的含量也有差异, 以至于难以获得高质量的 DNA。该研究采用 5 种方法提取了紫叶酢浆草叶片和茎段中的 DNA, 旨在寻找适合紫叶酢浆草基因组 DNA 高质量高效率的提取方法, 为该植物 DNA 分子标记和遗传多样性研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为盆栽紫叶酢浆草的茎段和叶片。

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 提取方法 (1)高盐低 pH 法: 参考邵鹏柱<sup>[4]</sup>的方法, 略有改进, 将提取液中加入了 3% 可溶性 PVP 和 2%  $\beta$ -巯基乙醇。(2)SDS 法: 参考董晓莉<sup>[5]</sup>的方法, 略有改进, 将提取液中 0.1%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  用 2%  $\beta$ -巯基乙醇代替。(3)改良 CTAB 法: 参考甘玲<sup>[6]</sup>的方法, 略有改进, 将  $\beta$ -巯基乙醇浓度由 1% 提高到 2%。(4)核 DNA 法: 参考李丹<sup>[7]</sup>的方法。(5)CTAB 区室法: 参考丁晓丹<sup>[8]</sup>的方法, 略有改进, 将提取液中 2%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  用 2%  $\beta$ -巯基乙醇代替, 可溶性 PVP 用量由 10% 减少到 3%。

1.2.2 DNA 质量检测 (1)紫外吸收检测 DNA 的纯度。将 DNA 粗提液适当稀释, 在核酸蛋白质分析仪上检测波长 260 和 280 nm 处的吸收值(OD 值), 计算  $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$  和 DNA 的浓度、得率, 判断 DNA 的纯度。(2)琼脂糖凝胶检测 DNA 的完整性。采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 在 100 V 电压下电泳 1 h, 在凝胶成像系统下拍照检测 DNA 的降解程度和 RNA 消化情况。(3)DNA 的 PCR 扩增检测。利用 RAPD 扩增反应引物  $G_6$  (GTGCCTAACC) 进行 PCR 扩增, 体系为 20  $\mu\text{L}$ 。其反应程序为: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 36℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 共 40 个循环, 72℃ 后延伸 10 min, 4℃ 保存。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 DNA 纯度及质量

紫外吸收检测结果表明, 5 种 DNA 提取方法均可有效去除紫叶酢浆草茎段中的色素, 但叶片

收稿日期: 2014-03-19

基金项目: 山西省基础研究“青年科技研究基金”资助项目(2013021026-2); 山西林业职业技术学院院级科研教改资助项目(201314)

第一作者简介: 侯艳霞(1981-), 女, 山西省交城县人, 博士, 讲师, 从事园艺专业教学与相关研究工作。E-mail: yx-hou2007@163.com。

中的色素则有不同程度的残留,DNA 抽提液及 DNA 的颜色都带有少量的紫色(见表 1)。就其质量而言,用高盐低 pH 法、SDS 法提取的 DNA 的  $OD_{260}/OD_{280}$  小于 1.8,说明 DNA 中含有少量蛋白质、氨基酸和酚类等小分子杂质;用改良 CTAB 法提取的 DNA 的  $OD_{260}/OD_{280}$  大于 1.8,说明存在不同程度的 RNA 微量污染;而核 DNA 法和 CTAB 区室法提取的 DNA 的  $OD_{260}/OD_{280}$

为 1.80~1.95,可见这两种方法得到的 DNA 纯度较高。从表 1 还可看出,叶片的 DNA 浓度及得率明显高于茎段,且用 SDS 法、改良 CTAB 法和核 DNA 法提取的 DNA 的浓度及得率相对较高,但所有方法提取的 DNA 其浓度都在  $350\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  以上,均达到了 RAPD 反应的模板要求。

表 1 5 种方法提取酢浆草茎段和叶片中的 DNA 结果分析  
Table 1 Test results of DNA extracted from leaves and stems of *Oxalis triangularis* by five different methods

部位 Parts	方法 Methods	$OD_{260}/OD_{280}$	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Concentration	得率/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Yield	抽提液颜色 Colour of leaching liquor	DNA 颜色 Colour of DNA
茎段 Stems	高盐低 pH 法	1.77	85	591.67	无色	白色
	SDS 法	1.75	325	2775.00	无色	白色
	改良 CTAB 法	1.96	205	1591.67	无色	白色
	核 DNA 法	1.92	285	1316.67	无色	白色
	CTAB 区室法	1.95	105	783.33	无色	白色
叶片 Leaves	高盐低 pH 法	1.72	455	1641.67	浅紫	白色
	SDS 法	1.64	1555	5758.33	紫色	浅紫
	改良 CTAB 法	1.97	1085	4233.33	紫色	浅紫
	核 DNA 法	1.89	955	3641.67	无色	白色
	CTAB 区室法	1.93	170	800.00	浅绿色	白色

2.2 DNA 完整性

琼脂糖凝胶电泳检测表明(见图 1),叶片中提取出的 DNA 条带清晰,基本无降解,而从茎段

中提取的 DNA 条带均有不同程度的拖尾,说明有不同程度的降解,且有胶状物聚集于点样孔形成亮带,说明有多糖和蛋白质污染。

2.3 RAPD 扩增结果

以购自北京赛百胜公司的  $G_6$  (GTGCCTA-ACC)为引物,对 5 种方法提取的酢浆草 DNA 进行扩增,均能获得扩增带。但从茎段中提取的 DNA 与叶片中的 DNA 相比,RAPD 扩增条带不

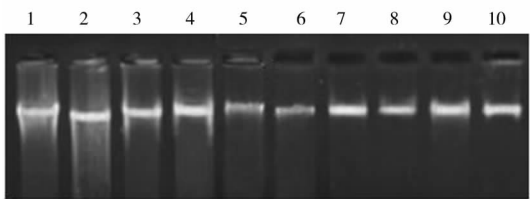


图 1 酢浆草 DNA 的电泳图谱

泳道 1~5 为酢浆草茎段,泳道 6~10 为酢浆草叶片;泳道 1、6 利用高盐低 pH 法,泳道 2、7 利用 SDS 法,泳道 3、8 利用改良 CTAB 法,泳道 4、9 利用核 DNA 法,泳道 5、10 利用 CTAB 区室法。下同。

Fig. 1 Electrophoretogram of *Oxalis triangularis* DNA

Lane 1~5 were stems of *Oxalis triangularis*, lane 6~10 were leaves of *Oxalis triangularis*; lane 1 and 6 were through the method of high-salt-low pH, lane 2 and 7 were through the method of SDS, lane 3 and 8 were through the method of modified CTAB, lane 4 and 9 were through method of nuclear DNA, lane 5 and 10 were through the method of CTAB subarea. The same below.

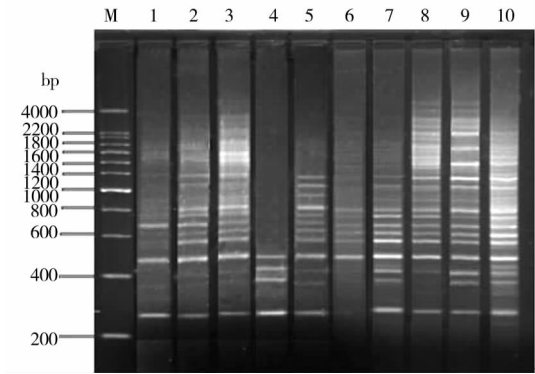


图 2 酢浆草 DNA 扩增的 PCR 电泳图

M:DNA Marker

Fig. 2 PCR amplification of *Oxalis triangularis* DAN

完整,效果较差;而叶片中用核 DNA 法和 CTAB 区室法提取的 DNA 的扩增谱带清晰,且条带数较多,重复性好,说明所提 DNA 可用于 RAPD 研究。

### 3 结论与讨论

从紫叶酢浆草中提取高质量的 DNA 是对其进行分子生物学的必要前提,而 DNA 的质量则受提取方法的影响,应根据不同植物甚至同种植物不同的组织选择适当的方法进行提取<sup>[9]</sup>。同时还要综合考虑操作方便、提取成本等因素,筛选出最适合的提取方法。

该试验结果表明,5 种方法都能够提取出酢浆草的 DNA,但 DNA 的纯度、浓度和得率等有明显差异。采用高盐低 pH 法和 CTAB 区室法所提取的 DNA 质量及得率较低,表明酢浆草组织中含有较多的多糖、生物碱和色素等物质,用这两种方法难以彻底去除;采用 SDS 法提取的 DNA 得率最高,但  $OD_{260}/OD_{280}$  低于 1.8,而且从茎段中提取的 DNA 在电泳检测时发现点样孔有亮带,说明有少量多糖的污染,从叶片中提取的 DNA 呈浅紫色,色素去除效果较差,可能会影响后续试验,因而也不适合紫叶酢浆草 DNA 的提取;改良 CTAB 法能很好地去除糖类杂质,但却存在一定的 RNA 污染,所提取叶片中 DNA 颜色也略显紫色,对 DNA 质量纯度有一定影响;核 DNA 法可先除去细胞质中的多糖、次生代谢产物等干扰物质,避免和减少 DNA 污染,试验也证实

了用核 DNA 法提取的 DNA 质量较好, $OD_{260}/OD_{280}$  位于 1.80~1.95,而且 DNA 颜色为白色,色素去除效果较好,是酢浆草 DNA 提取的首选方法。但用核 DNA 法提取的茎段中的 DNA 得率低于叶片,RAPD 扩增条带也不完整,而用叶片提取的 DNA 得率较高,电泳条带清晰无拖尾,RAPD 反应重复性好。因此,在紫叶酢浆草 DNA 提取时,应选取新鲜嫩叶为提取材料,采用核 DNA 法提取效果最佳。

### 参考文献:

- [1] 龙金花. 彩蝶纷飞的三角紫叶酢浆草[J]. 植物杂志, 2000(2):48.
- [2] 李耀亭,陈存武. 紫叶酢浆草体细胞胚诱导和发育条件研究[J]. 皖西学院学报,2006,22(5):74-76.
- [3] 蒋新龙. 紫叶酢浆草色素的提取及性质研究[J]. 食品科技, 2006,31(5):72-76.
- [4] 邵鹏柱,曹晖. 中药分子鉴定[M]. 上海:复旦大学出版社, 2004:52-53.
- [5] 董晓莉. 分子标记在彩叶猕猴桃和美味猕猴桃遗传分析中的应用[D]. 四川:四川农业大学,2006:11-16.
- [6] 甘玲. 梨离体保存材料遗传差异的分子检测[D]. 四川:四川农业大学,2006:15.
- [7] 李丹,凌定厚. 五种马尾松基因组 DNA 方法的比较[J]. 植物学通报,2000,17(2):168-173.
- [8] 丁晓东,吕柳新. 从顽拗植物荔枝中提取基因组 DNA 技术的研究[J]. 应用与环境生物学报,2000,6(2):142-145.
- [9] 王晓丹,吕慧颖,张敬,等. 以 PCR 为目的的大豆叶片 DNA 提取方法的比较研究[J]. 分子植物育种,2004,2(6): 891-894.

## Comparison on DNA Extraction Methods of *Oxalis triangularis*

HOU Yan-xia<sup>1</sup>, TANG Hao-ru<sup>2</sup>, ZHANG Yong<sup>2</sup>, CHEN Qing<sup>2</sup>, JI Li<sup>2</sup>

(1. Department of Horticulture, Shanxi Forestry Vocational Technical College, Taiyuan, Shanxi 030009; 2. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

**Abstract:** In order to extract high quality DNA of *Oxalis triangularis*, five different methods of extracting DNA from leaves and stems of *Oxalis triangularis* were compared. The results showed that the quality and yields of *Oxalis triangularis* DNA extracted by the methods of SDS, modified CTAB and nuclear DNA were better than the methods of high-salt-low pH and CTAB subarea. At the same time, the quality and yields of DNA extracted from leaves was better than that from stems. Comprehensive analysis showed that, taking leaf as material and using nuclear DNA method was the best.

**Key words:** *Oxalis triangularis*; DNA extraction method; DNA quality testing