



胡琼,茹巧美.植物和食物源基因组DNA提取及应用研究进展[J].黑龙江农业科学,2022(7):110-116.

植物和食物源基因组DNA提取及应用研究进展

胡 琼,茹巧美

(杭州万向职业技术学院 康养旅游系,浙江 杭州 310023)

摘要:近年来,分子生物学研究发展迅速。基因组脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid,DNA)的提取是最基本的技术,以其为基础的基因分析法广泛应用于基因组测序、分析突变体、转基因株系、质量鉴定和指纹图谱等研究。本文综述了近20年各种植物或食物中基因组DNA的抽提方法,对各种方法如十二烷基磺酸钠法等改进或差异、两种或两种以上方法的混合试验等进展进行了简析,并描述了改进的内容和取得的效果;对主要的抽提组织部位如叶片、茎段、种子、根部等研究现状进行了阐述;对农作物(经济作物)、药用植物、濒危植物及食源材料等基因组DNA的抽提种类及应用现状进行了分析。最后对基因组DNA抽提方法及应用前景进行了预期和展望。

关键词:植物;食物源;基因组DNA;抽提

植物分子生物学研究是近年来发展迅速的技术领域之一,植物基因组DNA的提取作为其最基本的技术,越来越重要。高通量植物基因组DNA抽提在基因组测序、分析突变体、转基因株系、质量鉴定和指纹图谱等研究中是必需的基础材料,包括“成簇规则间隔短回文重复片段”技术这种最受欢迎的基因组编辑工具也需要分离的基因组DNA才能进行序列分析^[1-3]。

分离不同来源的细胞总DNA有多种方法,但基本原理和主要步骤相同。目前关于植(食)物总DNA的抽提方法主要是洗涤剂法类,包括植物DNA抽提试剂盒法、十二烷基磺酸钠(Sodium Dodecyl Sulfate,SDS)法及其改良法、十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltriethylammonium Bromide,CTAB)法及其改良法、三羟甲基氨基甲烷生理盐水液(Tris Physiological Saline,TPS)法等。此类方法抽提植(食)物细胞总DNA不需要贵重的仪器设备,操作较为简单,能适用于许多植物或食物源材料的DNA抽提,且纯度又能满足分子生物学实验的要求^[4-5]。

本文综述了近20年各种植(食)物基因组DNA的抽提方法,对各种方法的改进或差异、混合试验进展等进行了针对性分析;归纳了主要的

抽提组织部位、抽提种类及应用现状,期望有助于相关研究者更好地了解植(食)物基因组DNA抽提方法,并进行适当选择和改良。

1 抽提方法

对不同种类材料的分子生物学检测方法研究中,DNA提取方法的选择直接影响其表现和实用性。

1.1 试剂盒抽提法

通常,商业化的DNA提取试剂盒中裂解液等试剂及吸附材料已进行较大优化,提取效果较好、容易标准化、操作简便。

吕永磊^[6]在抽提高寒植物长鞭红景天时发现试剂盒提取基因组DNA效果不理想。李梅阁等^[7]用6种不同公司生产的植物基因组提取试剂盒试验发现抽提效果不一,有的DNA严重降解和污染,有的DNA完整性低但扩增效率较低。高丽云等^[8]采取Ezup柱式植物DNA抽提试剂盒等方法抽提金铁锁DNA,发现试剂盒抽提到的金铁锁DNA质量最好,且符合分子标记试验。

综上,很多原因综合导致了对试剂盒抽提效果的评价贬褒不一,可能是试剂盒质量的参差不齐,也可能是材料种类繁多而对不同试剂盒的适用性有差异。

1.2 SDS法及其改良

SDS法的一个特点是去除蛋白质的效果理想,获得的DNA纯度较高,且耗时少。这在提取部分蛋白质含量较高的材料时效果较为明显,如种子和肉制品等。

收稿日期:2022-03-17

基金项目:浙江省教育厅一般科研项目(Y202147604);2022年浙江省大学生科技创新活动计划项目(2022R459A002)。

第一作者:胡琼(1977—),女,博士,副教授,从事食品安全检测研究。E-mail:1605310343@qq.com。

张伟等^[9]以大豆干种子为材料,在 SDS 提取液中加入蛋白酶 K 等,获得了较高纯度的 DNA,又大大缩短了提取时间。姚丹等^[10]研究也表明改良 SDS 法比 CTAB 法提取大豆基因组 DNA 效果更佳,可以满足后续各种分子生物学操作的要求。Zhang 等^[11]用酚/氯仿代替蛋白 K 改良 SDS 法成功抽提各种谷物种子的基因组 DNA,该方法不需要液氮研磨,也不需要昂贵的设备和药品,极大地缩短了提取时间。

高丹丹等^[12]以猪、牛、羊 3 种动物肉制品为原料,采用改良的 SDS 方法来提取其基因组 DNA。研究表明可以得到纯度较高、完整性较好的基因组 DNA,满足实验和分析的要求。

1.3 CTAB 法及其改良

1.3.1 CTAB 法 韦茜等^[4]采用 CTAB 法提取火龙果嫩茎基因组 DNA,经调整试验顺序、适当延长有机溶剂抽提时间等方法,有效地克服了提取过程中粘液物质的干扰,获得高质量 DNA。刘国彬等^[13]结合硅胶干燥对保存不同时间的锥栗叶样用 CTAB 法抽提基因组总 DNA,发现叶样硅胶保存时间 10~300 d 为 CTAB 法最佳 DNA 抽提时间,所得 DNA 浓度纯度均较好,电泳谱带清晰。

故 CTAB 法对处理含多糖成分的组织有独特的优势。但其提取缓冲液用量大,使用的盛器多而大,且必须首先对材料进行研磨,试验过程中还易造成纯度不够高及样品和用具的污染^[14]。

1.3.2 改良 CTAB 法 陈昆松等^[15]利用改良 CTAB 法提高多年生植物 DNA 纯度,为建立濒危珍稀及多年生植物资源的基因文库及开展相关的分子生物学研究提供了一个新途径。

Kalbande 等^[16]直接使用微型离心管进行植物组织采集、研磨和 DNA 纯化,整个提取过程不需转移,从而有效地避免了样本污染。几年后该方法高通量、安全、有效避免样品间交叉污染等优点被重新验证,认为其适用于各种工厂^[17]。

作为各种分子生物学研究的基础,DNA 样品制备质量的好坏在很大程度上决定了研究结果的成败。SDS 法及其改良法、CTAB 法及其改良法是目前植物和食物源 DNA 抽提应用最多的方法。综合众多研究,CTAB 法应用于植物新鲜幼叶 DNA 提取效果较好,而 SDS 法则较适用于干

燥材料的 DNA 提取,尤其如种子、根茎、动物肉制品等。

1.4 TPS 法及其改良

该方法与 CTAB 法、SDS 法等相比较,优势在于简化了操作步骤,提高了效率。尤其是各种改良的 TPS 法缩减了有机溶剂的使用,用热处理来替代有机溶剂的多次抽提,简化了除去蛋白质、乙醇洗涤、风干溶解等步骤^[18]。

郎需勇等^[19]以棉花干种子胚为基因组 DNA 提取底物,仅通过一种 TPS 提取缓冲液、两次高温水煮,直接利用其浸出液进行 PCR 就得到了满意的效果,而且整个提取过程无毒、无污染,是一种资源节约型和环境友好型的高效提取方法。随后张友昌等^[18]在此基础上添加了微型手电钻磨样代替液氮磨样等内容,发现较原来的 TPS 法更加简单、快速和有效。

1.5 两种或以上方法的混合试验

相较于单一方法,更多研究倾向于结合两种或两种以上抽提方法的优势。

1.5.1 两种方法相结合(或混合)提取 范文洁^[20]结合 CTAB 及试剂盒法的原理,用不同浓度的 CTAB 提取液分次提取植物叶片 DNA,并利用试剂盒的纯化功能,获得高质高产的 DNA。这种方法可用于大部分植物,但缺点在于涉及药品和步骤较多。有学者先后用 SDS-CTAB 法纯化抽提槟榔和桉李叶片基因组 DNA,认为可以获得纯度高、一级结构完整、分子量较大的 DNA,满足下游各种分子实验的要求^[21-22]。

每种方法有其优缺点,如 CTAB 偏向分离多糖,SDS 则偏向蛋白质分离。故将两种方法结合使用可优势互补,取得更好的试验结果。

1.5.2 两种或多种抽提方法进行比较选择 陈赞等^[23]采用 CTAB 法和试剂盒法提取鱼糜制品 DNA,认为其各有利弊。甄亚平等^[24]分别采用 CTAB 和 SDS 法提取豆腐 DNA,发现后者比前者更适合抽提豆腐样 DNA,提取到的 DNA 可用于实时荧光 PCR 法检测豆腐内外源基因。

任海龙^[25]通过 CTAB 法及改良法、改良 SDS 法等 5 种方法筛选适合大黄种子基因组 DNA 提取的方法。结果表明,高盐低 pH 法和改良 SDS 法提取的 DNA 得率均较好,PCR 扩增条带清晰,能满足分子标记的要求。

1.6 提取方法的改进或差异

各种抽提方法的改进,尤其是 CTAB 与改良 CTAB 法的差异主要集中在以下 5 个方面。

1.6.1 研磨及前处理 冉贵萍等^[26]用石英砂代替液氮研磨吴茱萸幼嫩叶片,研磨均匀快速,大大减少破碎组织与空气接触的时间。艾呈祥等^[27]在提取栗属植物基因组起始的研磨阶段加入 PVP 和维生素 C,对防止后面提取步骤中 DNA 褐变起到了有效抑制作用。吕永磊^[28]在离心管中预先加入 CTAB 抽提液及 β -巯基乙醇,65℃ 预热,用少许石英砂和液氮共同研磨。这个环节的改进通过加快研磨速度或加溶剂,进而降低 DNA 断裂、褐变或降解,以获得完整或高质量的 DNA。

1.6.2 裂解及前处理 张勇等^[29]在荒漠植物白刺裂解细胞膜之前用无 CTAB 的缓冲液进行两次抽提,效果理想。李彦农^[30]在提取液中加入了能够维持细胞渗透势的葡萄糖,使枯楼细胞核 DNA 与杂质更好分离。以上这些改进较好地减少了多糖、酚类等杂质的污染,提高了 DNA 的提取效率。

1.6.3 抽提处理 该步骤主要是用各种有机溶剂去除多糖和蛋白质等杂质。杨海旭等^[31]利用苯酚对枣疯病病原检测时发现,使用苯酚抽提后有可能在一定程度上破坏基因组 DNA,尤其对含量较少的植原体基因组破坏更加明显,导致最终检测不到病原特异条带。但这个结果与韦茜等^[4]之前的研究报道相反。故 DNA 抽提时苯酚等有机溶剂是否需使用、使用次数对结果的具体影响至今还不确定。

1.6.4 沉淀处理 一般用异丙醇或无水乙醇进行沉淀。艾呈祥等^[27]在提取栗属植物基因组时加入蛋白酶 K,能在降低酶活性的同时,亦能有效降解植物组织中与 DNA 结合的蛋白质,从而避免蛋白质和 DNA 共沉淀。刘月学等^[32]进一步证实 CTAB-蛋白酶法适用于枇杷、荔枝、龙眼等木本果树 DNA 的提取。

早期周国辉等^[33]用二氧化硅吸附悬浆来抽提龙眼叶中的 DNA,避免了柱层抽提法的繁琐复杂,且使用试剂廉价,适用一般实验室,但其产量较低。石若冰等^[34]利用铁盐沉积法等制备成的新型磁性微球提取植物基因组 DNA,获得的基因组 DNA 纯度高、片段完整。以上两种是用二氧

化硅吸附和磁吸附代替常见的试剂沉淀,是对 CTAB 抽提方法的一种改良,但效果不稳定。

1.6.5 纯化处理 用 75% 酒精进行多次洗涤纯化比较常见,且操作简单。陈大明等^[35]用 CsCl 密度梯度离心纯化,获得了大片段高纯度基因组,用以研究构建植物基因组 DNA 文库。但 CsCl 密度梯度离心的纯化步骤要求较高,且适用于 DNA 需求量大的试验。

2 抽提组织部位及特性

2.1 叶片和茎

叶片是最常用于植物 DNA 提取的组织。高丽云等^[8]采取天然分布区内的当年生新鲜无病虫害的金铁锁幼嫩样本装入自封袋,用变色硅胶干固定备用。陈昆松等^[15]以多年生藤本植物猕猴桃幼叶为材料。多个研究报道抽提 DNA 得率与叶片发育程度有关,相比较于嫩叶,老叶 DNA 更易降解,且含有的蛋白质和酚类物质更多^[5,36]。表明相比于其他耐储藏材料,从叶片尤其是新鲜叶片中抽提 DNA 相对容易且质量较好。

韦茜等^[4]以火龙果嫩茎为试材,发现选用幼嫩的茎尖作提取材料可以大大提高 DNA 的提取率。郝朝运等^[37]研究发现七子花不同组织 DNA 的提取产率由高到低依次是嫩叶、茎和老叶,质量以嫩叶和茎抽提的较高。说明茎部也是抽提的较好部位。

2.2 根(皮部、根茎)和种子

干燥根皮类中药材牡丹皮具有细胞壁坚硬不易破碎的特点,徐纲等^[38]提高水浴温度到 85℃ 才使细胞得到充分裂解释放。李晓波等^[39]研究表明在抽提木质部发达的根及根茎类药材升麻的总 DNA 时,所需的防止多酚类物质氧化的试剂浓度明显高于抽提叶片时。可见,从根部等干燥部位提取 DNA 相比较于叶部的难度大,在很大程度上阻碍了相关材料的分子生物学研究。

相比较于从叶片等材料中抽提基因组 DNA,以种子为提取材料具有随时可提取、不用液氮、简便、经济等优点,从种子中抽提基因组 DNA 的方法也层出不穷^[40-41]。以种子为抽提材料的基本方法是 SDS 法或其改良法,这与种子中蛋白质含量高有关。

2.3 植物愈伤组织

汤文开等^[42]对棉花下胚轴经农杆菌转化后

形成的愈伤组织抽提基因组 DNA;于波等^[43]对花烛佛焰苞片和胚性愈伤组织等 5 种材料提取基因组 DNA,获得的 DNA 纯度及产量较高。

2.4 动物源制品

赵文秀等^[44]采用酚-氯仿法抽提大黄鱼和草鱼鱼糜制作工序中的 DNA,并对 DNA 产物的质量进行评价。结果显示,虽然加工导致 DNA 质量下降,但仍能满足后续物种鉴定以及 DNA 溯源的试验要求。陈传君等^[45]提取干羊肉基因组 DNA,筛选出了最合适的抽提方法,保证了羊肉真伪鉴别的准确性和灵敏度。

3 抽提种类及应用研究

DNA 的提取是分子生物学后续研究的技术基础,其应用研究可涉及到生物学、生态学、生理学及病理学等多方面,跨农业、药业、食品业乃至工业等。譬如研究如何更好地提取野生或半野生的麻疯树的基因组 DNA 对保证麻疯树生物柴油产业可持续发展有重要意义^[46]。下文介绍部分物种 DNA 抽提研究应用。

3.1 抽提种类

Chunwogse 等^[47]在早期就对农作物水稻、小麦、棉花、花生、大豆、玉米等基因组 DNA 抽提进行了报道,相关内容后期又陆续开展研究^[18-19,41]。经济作物如桉属植物、茛蓂科白刺属植物、槟榔、进境多年生黑麦草和白三叶、栗属植物、桑树、油茶、悬铃木等也陆续被报道^[21,28,48]。

颜松^[49]以采自四川峨眉山的何首乌、虎耳草、薄荷、虎杖、红豆杉、金银花、桔梗等 13 种药用植物的幼嫩叶片为试验材料提取基因组 DNA。此外金铁锁、冬虫夏草、石斛、雷公藤、长鞭红景天等也是基因组 DNA 常见的抽提对象^[8,21,27,29]。

3.2 应用研究

3.2.1 构建 DNA 分子身份证 张立平^[50]抽提多份水稻品种的基因组 DNA,建立水稻品种分子指纹图谱,进行数字编码,构建成各水稻品种的身份证。随后,小麦、玉米、大豆、棉花等多个作物不同品种被进行了身份证编制,为种子用户、企业和管理部门提供了一种新的种子质量追溯和种子行业监管解决方案^[51-52]。以上由基因组 DNA 构建的各种农作物 DNA 分子身份证编制和进化树建立,对遗传多样性分析、泛基因组学研究及作物育种具有重要意义。

3.2.2 相关病害病原菌鉴定 大量进口的草坪草和牧草种子携带的部分病原真菌对种子发芽、种苗活力具有一定负作用,雷娅红^[48]比较 3 种抽提方法后获得高质量的基因组 DNA,测序分析了来源于不同国家的两大草种携带真菌的多样性,有效地预防了病原真菌的传播和病害的发生。为从基因组学角度研究槟榔黄化病,曾莉娟等^[21]从田间典型槟榔黄化病植株叶片和健康槟榔植株叶片中研究提取了高质量的 DNA,为槟榔叶片基因组学研究奠定了基础。

3.2.3 微观生物遗传-宏观生态特征关联 周宏^[53]基于桑树基因组 DNA 对桑树中 4 个与抗旱相关转录因子家族进行鉴定与表达分析,以了解基因组转录因子参与生物-生态胁迫的应答反应,最终以掌握其在调节植物适应环境变化中起的重要作用。

分析遗传物质 DNA 的多态性也为从分子和居群水平上揭示中药品质变异的生物学实质提供了可能。李琳^[54]获得高质量肉苁蓉 DNA 后通过其单核苷酸变异(SNP)的检测与注释,发现 36 条含 SNP 变异基因,认为这些基因的差异表达与变异可能是导致肉苁蓉品质差异形成的生物学原因,该研究结果为中药材品质变异理论研究提供科学依据。

3.2.4 DNA 条形码鉴定系统和指纹图谱 真伪和优劣是中药的根本研究,通过获得分析遗传物质 DNA 来鉴定中药的真伪、道地性和来源等特征有不可替代的优越性^[55]。

赵新悦等^[56]优化方法后获得桔梗 DNA,结合 DNA 条形码分子特异性鉴别桔梗及其易混品,为桔梗药材的基原鉴定提供科学依据。姜颖等^[57]采用 RADP 法对不同地区板蓝根基因组 DNA 进行了基因组学指纹图谱分析,为鉴别中药材板蓝根真伪和优劣具有重要意义,为临床安全和合理用药提供了理论依据。

3.2.5 动植物源性食品掺假、转基因成分等检测 近年来,动物源性食品掺假、过度添加各种添加剂、使用非食用性原料和成分、转基因食品等各种食品安全问题不断出现。DNA 溯源或基因检测是食品质量安全管理控制的有效手段之一。

余春燕^[58]以抗草甘膦转基因大豆及其加工产品为材料,建立了以 CTAB 法为基础的转基因

大豆及其粗、深加工产品抽提基因组 DNA 的技术,可作为大豆和豆粕中转基因成分定量检测的基因组 DNA。付晓华等^[59]设计 5 种不同方案对 15 种来自不同生产厂家及加工精度的棉籽油进行 DNA 的抽提,用以检测转基因成分。

岳巧云等^[60]首次利用实时荧光 PCR 方法,对奶粉中掺入豆粉等植物成分进行定性、定量分析。发现该法能够对奶粉中掺入的植物成分进行快速准确地定性、定量分析,可以作为市场监管和检验鉴定的可行性方法。

3.2.6 其他 对濒危珍稀植物进行分子方面的检测也比较常见,如被列为国家首批二级保护植物的七子花忍冬科的单种属植物,再如作为亚热带珍稀濒危植物之一、属国家二级保护植物的壳斗科常绿阔叶大乔木格氏栲,还有濒危的野生玫瑰等,均可通过获取高质量的 DNA 样品,从分子水平研究分析其濒危原因,用以制定有针对性的保护对策并进行遗传多样性分析和核心种质构建等^[61]。

部分名品植物常依据形态学鉴定诸如瓣型、叶艺来分类,而且品种命名不够规范,同种异名、同名异种现象突出,严重阻碍了品种交换。DNA 分子技术则是从基因水平鉴别品种的有效手段。主要集中在如山茶、蜘蛛抱蛋、木兰和牡丹等^[5,62]。

4 讨论

基因组编辑已成为一种越来越流行的反遗传工具,而高通量提取基因组 DNA 常常是植物基因组编辑研究的一个限制因素和首要因素^[63-64]。只有提取的 DNA 纯度和浓度达到一定的要求,才能保证后续的分子生物学的顺利完成。

抽提基因组 DNA 的方法很多,可选用的材料很多,可改良的环节也很多。众多的研究表明,同样的方法和条件抽提同一种物品的不同品系基因组 DNA,提取得率也有明显差别,说明抽提基因组 DNA 方法的针对性非常强^[65]。同一试验材料、同一试验目的,不同的试验者则可用不同的方法得到同样有效的试验结果。张伟等^[9]和姚丹等^[10]先后提取大豆干种子 DNA,均用于 SSR 分析,也均用于改良 SDS 法,但两者的抽提细节差异非常大。

传统的 CTAB 法操作繁琐、耗时长、试剂组成复杂,部分改良法又用了大量的酚、氯仿等有机

溶剂,易造成环境污染等问题,偏离国家“绿水青山”的环境原则。李白等^[22]用 SDS-CTAB 结合改良法提取作物基因组 DNA,该方法无需酚仿抽提,成本低廉、简单、高效、环保。王沙沙等^[66]采用改良滤纸法抽提 33 种药材的基因组 DNA,不需要使用有毒试剂,具有成本低、操作简单、省时等优点,为中药材分子鉴定现场运用奠定基础。可见,不管是农作物、中药材还是食品中 DNA 的提取,快速简便无污染的抽提方法都是主流需求。

以往常见的抽提基因组 DNA 主要集中在农作物、中药材、植物及极少数动物源食品的检测上。实际在动物源食品尤其微生物研究上应用抽提基因组 DNA 技术的试验更是层出不穷^[67-70]。同所有的应用研究一样,总会不断地出现新的方法来完善或替代旧的方法,也会在新的应用领域来开展研究,如 DNA 条形码技术应用于苔藓植物,并构建苔藓植物系统发育进化关系树^[71];如 DNA 分子身份证构建技术在中药材中逐渐铺开^[72];再如目前国家非常重视的作物种植资源收集工程,基于基因组 DNA 便是非常好的途径之一^[73]。相信以后基于 DNA 的植物食物源基因组研究将会更深更广,而如何保证获得高质量 DNA 的研究也会随之不断推进。

参考文献:

- [1] ZHOU Z,JIANG Y,WANG Z,et al. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean[J]. Nature Biotechnology, 2015,33(4):408-414.
- [2] ZHANG Y,LIANG Z,ZONG Y,et al. Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA [J]. Nature Communications,2016,7:12617.
- [3] WANG Y,CHENG X,SHAN Q,et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew[J]. Nature Biotechnology,2014,32(9):947-951.
- [4] 韦茜,蔡永强,金吉芬,等. CTAB 法提取火龙果基因组 DNA 的试验研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(13):5325-5326.
- [5] 张金丽,张罗霞,杨坤梅,等. 改良 CTAB 法对山茶属植物基因组 DNA 提取的比较研究[J]. 江西农业大学学报,2017,39(4):785-791.
- [6] 吕永磊. 西藏高寒植物长鞭红景天 AFLP 标记的遗传多样性研究[D]. 拉萨:西藏大学,2009.
- [7] 李梅阁,吴亚君,杨艳歌,等. 浆果基因组 DNA 提取方法比较及 PCR 优化[J]. 中国食品学报,2018,6(18):60-67.

- [8] 高丽云,陈杰,胡小龙,等. 金铁锁 SSR-PCR 反应体系的建立和优化[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2019,34(6): 1024-1032.
- [9] 张伟,谢甫锦,宋显军,等. 适于 SSR 分析的大豆干种子中 DNA 快速提取[J]. 华北农学报,2007,22(2):133-135.
- [10] 姚丹,张扬,曲静,等. 用于 SSR 分析的大豆干种子 DNA 提取条件的优化[J]. 安徽农业科学,2009,37(23): 10917-10921.
- [11] ZHANG F,LIU Y,SONG J,et al. A method for rapid salt-extraction of high-quality genomic DNA from plant seeds[J]. Agricultural Science & Technology,2012,13(3):485-488.
- [12] 高丹丹,陈燕,王迎华,等. 动物肉制品基因组 DNA 的提取和纯化[J]. 食品科技,2007,8:42-44.
- [13] 刘国彬,龚榜初,罗正荣. 锥栗叶样保存时间对 DNA 提取质量的影响[J]. 湖南农业科学,2009(4):8-10.
- [14] ALESSIO S,MARCELLO D. An approach to the critical assessment of the experimental conditions in practical molecular biology: Isolation of plant DNA[J]. Biochemistry and Molecular Biology Education,2001,29:21-23.
- [15] 陈昆松,李方,徐昌杰,等. 改良 CTAB 法用于多年生植物组织基因组 DNA 的大量提取[J]. 遗传,2004,26(4): 529-531.
- [16] KALBANDE B,PATIL A,CHAKRABARTY P,et al. An efficient, simple and high throughput protocol for cotton genomic DNA isolation[J]. Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology,2016,25(4):437-441.
- [17] YU D S,ZHANG J,TAN G X,et al. An easily-performed high-throughput method for plant genomic DNA extraction[J]. Analytical Biochemistry,2019,569:28-30.
- [18] 张友昌,冯常辉,别墅,等. 改进的 TPS 法:一种棉花叶片 DNA 快速提取方法[J]. 棉花学报,2016,28(4):413-417.
- [19] 郎需勇,刘伟霞,杨亮,等. 一种快速提取棉花干种子基因组 DNA 的新方法[J]. 棉花学报,2014,26(1):87-94.
- [20] 范文洁. 雷公藤种源地理遗传变异规律研究[D]. 福州:福建农林大学,2010.
- [21] 曾莉娟,李涛,张雨良,等. 槟榔基因组 DNA 的高效提取方法[J]. 江西农业学报,2010,22(2):58-59.
- [22] 李白,李军,王蕾,等. 橐李叶片 DNA 提取方法探讨[J]. 浙江农业科学,2019,60(1):55-57,60.
- [23] 陈赞,汪之和. 鱼糜制品中基因组 DNA 提取方法的比较[J]. 湖北农业科学,2007,46(4):520-522.
- [24] 甄亚平,赵中焄,李鹏高,等. 豆腐中转基因大豆成分的检测[J]. 食品安全质量检测学报,2015,8(6):3230-3235.
- [25] 任海龙. 药用植物大黄种子基因组 DNA 的提取方法研究[J]. 山西农业科学,2018,46(3):325-327,349.
- [26] 冉贵萍,黄海,刘杨,等. 基于 AFLP 分析用吴茱萸叶高质量 DNA 的提取[J]. 生物技术,2007,17(5):38-40.
- [27] 艾呈祥,余贤美,刘庆忠,等. 栗属植物基因组 DNA 的提取及 RAPD、SSR 分析[J]. 西北植物学报,2006,26(3): 624-627.
- [28] 吕永磊. 改进的 CTAB 法提取高寒植物长鞭红景天基因组 DNA 的研究[J]. 西藏科技,2012(2):66-69.
- [29] 张勇,李鸣,杨同文,等. 荒漠植物白刺总 DNA 提取及鉴定[J]. 中国沙漠,2006,26(3):489-492.
- [30] 李彦农. 栝楼性别的分子标记研究[D]. 南京:南京农业大学,2005.
- [31] 杨海旭,赵锦,武晓波,等. 苯酚对枣疯病病原检测及 AFLP 分析的影响[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(5): 640-644.
- [32] 刘月学,杨向晖,林顺权,等. 枇杷属植物基因组 DNA 提取方法的改进及其应用[J]. 果树学报,2005,22(2): 182-185.
- [33] 周国辉,李华平,费继锋. 高质量龙眼 DNA 快速抽提技术[J]. 农业生物技术学报,2001,9(4):325.
- [34] 石若冰,胡云丽,薛芸,等. 新型磁性微球的制备及在植物基因组 DNA 提取中的应用[C]// 第十七届全国色谱学术报告会及仪器展览会会议论文集,2009:953-954.
- [35] 陈大明,徐昌杰,张上隆. 脐橙基因组 DNA 文库的构建[J]. 园艺学报,2000,27(6):401-405.
- [36] 李妮亚,王芳,沈文涛,等. 椰子植物叶基因组 DNA 提取[J]. 海南师范大学学报(自然科学版),2008,21(1): 71-74.
- [37] 郝朝运,刘鹏,郭卫东,等. 忍冬科部分植物 DNA 提取方法的研究[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版),2006(1): 92-98.
- [38] 徐纲,于超,赵华,等. 牡丹皮基因组 DNA 提取的影响因素研究[J]. 中国药房,2008,19(27):2084-2087.
- [39] 李晓波,冯波,张朝晖,等. 植物药材总 DNA 提取[J]. 中草药,2002,33(7):652-654.
- [40] YANG J B,PENG Z S,ZHAO M,et al. An optimum and rapid DNA extraction method from dry seeds of wheat[J]. Journal of China West Normal University (Natural Sciences),2006,27(1):49-52.
- [41] 王惠,郭峰,关超,等. 适用于 SSR 分析的半粒水稻干种子 DNA 快速提取[J]. 科技导报,2013,31(25):58-60.
- [42] 汤文开,谭新,张辉,等. 一种快速简单高效提取植物 DNA 的方法[J]. 华中师范大学学报,2007,41(3):447-449.
- [43] 于波,刘金梅,廖飞雄,等. 花烛 5 种组织材料基因组 DNA 提取效率的比较研究[C]//张启翔. 中国观赏园艺研究进展(2013). 北京:中国林业出版社,2013:161-164.
- [44] 赵文秀,潘海云,王锡昌,等. 用于分子溯源的鱼糜 DNA 随加工过程的质量变化分析[J]. 食品与生物技术学报,2011(5):767-772.
- [45] 陈传君,金鹭,林华,等. 干制羊肉基因组 DNA 不同提取方法的比较[J]. 核农学报,2020,34(12):2762-2768.
- [46] 李静,曾德贤,吴子欢,等. 麻疯树(*Jatropha curcas* L.)种子总 DNA 提取方法的建立和优化[J]. 西南农业学报,2011,24(2):728-731.
- [47] CHUNWOGSE J,MARTIN G B,TANSLY S D. Pre-germination genotype screening using PCR amplification of half-seeds[J]. Theoretical and Applied Genetics,1993, 86(6):694-698.
- [48] 雷娅红. 进境多年生黑麦草和白三叶种带真菌多样性研究

- [D]. 兰州:兰州大学,2014.
- [49] 颜松. 药用植物基因组 DNA 提取及铁皮石斛 RAPD 反应体系的优化[D]. 成都:西南交通大学,2009.
- [50] 张立平. 基于农作物品种身份证的种子溯源及监管系统研究与应用[D]. 合肥:安徽农业大学,2018.
- [51] LIU Y C, DU H L, LI P C, et al. Pan-genome of wild and cultivated soybeans[J]. *Cell*, 2020, 182(1): 162-176.
- [52] 李清, 罗永坚, 吴柔贤, 等. 广东省大豆种质资源遗传多样性分析及 DNA 分子身份证构建[J]. *广东农业科学*, 2020, 47(12): 221-228.
- [53] 周宏. 桑树抗旱相关 4 个转录因子家族鉴定与表达分析[D]. 镇江:江苏科技大学,2017.
- [54] 李琳. 基于化学-遗传-生态特征的中药材品质变异研究——以肉苁蓉、黄花蒿为例[D]. 北京:北京协和医学院中国医学科学院,2018.
- [55] BOEHME P, AMENDT J, DISNEY R H L, et al. Molecular identification of carrion-breeding scuttle flies (Dipter: Phoridae) using COI barcodes[J]. *International Journal of Legal Medicine*, 2010, 124(6): 577-581.
- [56] 赵新悦, 刘蕊, 冯红, 等. 中药材桔梗及其易混品的 DNA 条形码分子鉴定[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(1): 60-67.
- [57] 姜颖, 杨欣, 于英君. 异地板蓝根基因组 DNA 指纹图谱建立及 RAPD-PCR 反应体系优化[J]. *中医药学报*, 2014, 42(5): 64-66.
- [58] 余春燕. 转基因大豆及其制品检测技术的研究[D]. 杭州:浙江工商大学,2007.
- [59] 付晓华, 张岩, 张薇, 等. 棉籽油中 DNA 不同提取方法的比较研究[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(3): 42-46.
- [60] 岳巧云, 陈定虎, 伍朝晖, 等. 实时荧光 PCR 在鉴别奶粉中掺入大豆成分的应用研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(12): 190-193.
- [61] 姜丽媛. 濒危植物野生玫瑰种质资源评价与核心种质构建[D]. 泰安:山东农业大学,2018.
- [62] 李剑. 21 种木兰科常绿植物的遗传多样性分析[D]. 郑州:河南农业大学,2013.
- [63] ZHANG H, ZHANG J, LANG Z, et al. Genome editing-principles and applications for functional genomics research and crop improvement [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2017, 36(4): 291-309.
- [64] PENG C, WANG H, XU X, et al. High-throughput detection and screening of plants modified by gene editing using quantitative real-time polymerase chain reaction[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2018, 95(3): 557-567.
- [65] 李宗艳, 秦艳玲, 蒙进芳, 等. 西南牡丹品种起源的 ISSR 研究[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(5): 931-940.
- [66] 王沙沙, 王芳, 张涵, 等. 滤纸法快速提取中药材 DNA 方法的研究[J]. *中国现代中药*, 2020, 22(2): 213-218.
- [67] 李楠, 虞平添, 焦兆群, 等. 特异性扩增技术鉴定龟甲与鳖甲[J]. *中成药*, 2018, 40(10): 2328-2333.
- [68] 邸鹏月, 彭宇, 李晨, 等. 基于宏基因组分析桑葚酵素的生物多样性[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(5): 251-257.
- [69] 陈雅琦, 苏楷淇, 李春杰, 等. 醉马草 DNA 提取方法的对比与优化[J]. *草业科学*, 2020, 5: 32-38.
- [70] 迟馨, 王心悦, 刘学卿, 等. 不同色相‘富士’苹果解袋后着色过程中 DNA 甲基化的差异分析[J]. *北方园艺*, 2020 (17): 23-29.
- [71] 胡永春, 杨子, 习靓靓, 等. DNA 条形码技术在白云山国家森林公园苔藓植物群落研究中的应用[J]. *河南农业大学学报*, 2020, 54(5): 836-844.
- [72] 郭艳春, 张力岚, 陈思远, 等. 黄麻应用核心种质的 DNA 分子身份证构建[J]. *作物学报*, 2021, 47(1): 80-93.
- [73] 王晶, 李建, 史根生, 等. 核桃国内外主栽品种种质资源搜集及 DNA 提取保存[J]. *农业与技术*, 2020, 40(18): 32-34.

Research Progress on Extraction and Application of Genomic DNA from Plants and Food Sources

HU Qiong, RU Qiao-mei

(Department of Health and Tourism, Hangzhou Wanxiang Polytechnic, Hangzhou 310023, China)

Abstract: In recent years, with the rapid development of molecular genetic technology, the extraction of genomic DNA is one of the most basic techniques, and DNA-based gene analysis is widely used in genome sequencing, mutant analysis, transgenic lines, quality identification, fingerprinting and other studies. This paper reviewed the methods of genomic DNA extraction from plants and foods in the past 20 years, and analyzed the improvement or difference of various methods such as CTAB method, and the mixed test of two or more methods, and described the content of improvement and the results obtained. The main tissue parts such as leaf, stem segment, seed and root were described. The species and application of genomic DNA of agricultural crops (cash crops), medicinal plants, endangered plants and food source materials were analyzed. Finally, we prospected the further research and application of genomic DNA extraction methods.

Keywords: plants; food sources; genomic DNA; extraction