

# 应用微芯片电泳 MultiNA 结合 PCR 法 鉴别薄荷与留兰香

## MultiNA-031

**摘要：**本文利用碱裂解法提取薄荷与留兰香的基因组 DNA，设计品种特异性引物进行 PCR 扩增，应用微芯片电泳仪 MultiNA 检测扩增产物，结果显示薄荷和留兰香的引物分别只对本品种的基因组有响应，电泳凝胶图上显示出与理论尺寸相符的特异性条带，而对另外一个品种则无响应。本实验表明基于微芯片电泳仪 MultiNA 开发的方法可以快速实现薄荷和留兰香的鉴别。

**关键词：**MultiNA PCR 品种鉴定 薄荷 留兰香

薄荷与留兰香均为传统中药材，两者外形相似，易产生混淆。薄荷具有宣散风热、清头目、透疹的功能，主治风热感冒、风温初起、头痛、目赤、喉痹、口疮、风疹、麻疹、胸胁胀闷。留兰香具有祛风散寒、止咳消肿解毒的功能，可用于感冒咳嗽，胃痛，腹胀，神经性头痛；外用治跌打肿痛，眼结膜炎，小儿疮疖。

薄荷与留兰香的功能存在显著差异，正确进行品种识别对保证临床用药安全至关重要。

本文基于岛津微芯片电泳仪 MultiNA，结合 PCR 法建立了快速鉴别薄荷与留兰香的方法。此方法操作简单，特异性高，可快速实现中药材品种的鉴定。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

微芯片电泳仪 MCE-202 MultiNA，见图 1。



图 1 微芯片电泳仪 MultiNA

### 1.2 试剂与样品

TB Green Premix Ex Taq™ II (宝生物工程有限公司, RR820A)

SYBR® Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, S-11494)

DNA-500 Reagent Kit for MultiNA (Shimadzu, 292-27910-91)

25 bp DNA Ladder (Invitrogen, 10597-011)

样品：购自药店的中药材薄荷与留兰香

引物：根据薄荷与留兰香的基因组差异位点设计特异性引物，PCR 扩增产物理论长度分别为 135 bp 和 288 bp。

### 1.3 分析条件

DNA-500 on-chip 模式

### 1.4 实验方法

取药材样品置研钵中，加液氮适量，充分研磨使成粉末。取 1 mg 粉末加入 20  $\mu$ L 裂解液 (0.5 M NaOH, 1% PVP (聚乙烯吡咯烷酮), 1% Triton X-100)，涡旋振荡 20 s, 56  $^{\circ}$ C 水浴 20 s, 加入 80  $\mu$ L 0.1 M Tris-HCl (pH=8.0) 缓冲液中中止反应，离心取上清。

利用两种品种特异性引物分别进行 PCR 扩增反应，PCR 反应体系：在 200  $\mu$ L 离心管中进行，反应总体积为 20  $\mu$ L，反应体系包括 2X TB Green Premix Ex Taq™ II PCR 缓冲液 10  $\mu$ L，鉴别引物 (10  $\mu$ M) 各 0.5  $\mu$ L，模板 (消化产物) 0.5  $\mu$ L，无菌超纯水 8.5  $\mu$ L。将离心管置 PCR 仪，PCR 反应参数：95 $^{\circ}$ C 预变性 30 秒，循环反应 32 次 (94 $^{\circ}$ C 30 秒，63 $^{\circ}$ C (薄荷) /56 $^{\circ}$ C (留兰香) 30 秒，72 $^{\circ}$ C 30 秒)，延伸 (72 $^{\circ}$ C) 5 分钟。将 PCR 产物置入微芯片电泳仪 MultiNA 进行测定。根据理论产物片段大小，扩增产物选用 DNA-500 的试剂盒进行测定。

## 结果与讨论

使用品种特异性引物进行 PCR 扩增后，应用 MultiNA 对扩增产物进行检测，检测结果见图 2。由图可知，使用薄荷特异性引物对样品进行 PCR 扩增和电泳检测后，薄荷检测到明显条带，尺寸为 140 bp，与理论值 135 bp 相符 (方法误差为  $\pm 5\%$ )，而留兰香无扩增条带，验证了引物的特异性；同样，使用留兰香特异性引物对样品进行检测，留兰香样品在凝胶图上有显著条带，电泳图显示出 283 bp 的信号峰，与理论值 288 bp 相符，而薄荷对留兰香引物则无响应。以上说明利用两种品种特异性引物，成功鉴别薄荷与留兰香。

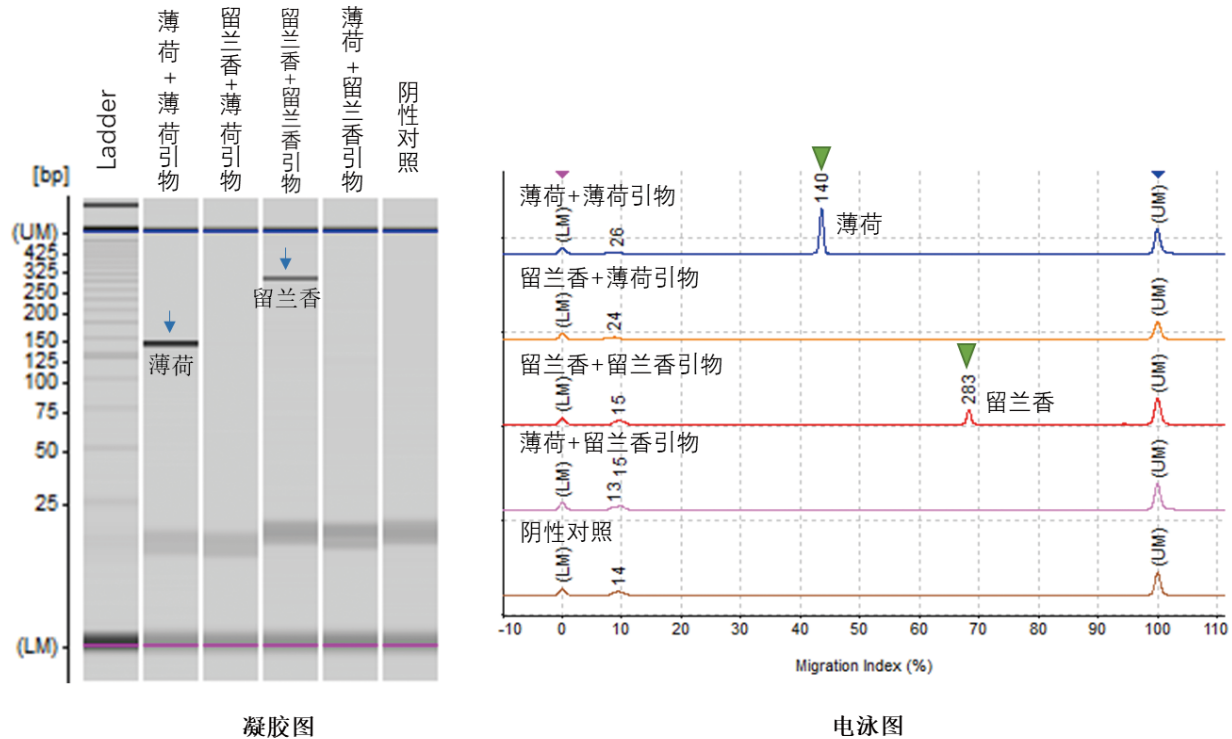


图 2 MultiNA 检测扩增产物的结果

## ■ 结论

本文基于分子生物学技术，采用岛津微芯片电泳仪 MultiNA 成功建立了鉴别薄荷与留兰香的方法。此方法高效、灵敏、检测特异性高、操作简便，是市场上易混淆中药材品种鉴别的高效工具和有力手段。

岛津应用云

