

A&DSim 植物 DNA 提取液说明书

产品组成

Cat. No.	A-3203100
A&DSim 植物 DNA 提取液	100 ml
说明书	1 份

产品储存与有效期

试剂如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适用于抽提植物的基因组 DNA。提取方法简单快速，60 分钟内完成多个样品的处理。获得的 DNA 可直接用于 Southern 杂交、PCR、DNA 克隆以及其他相关分子生物学实验操作。因其采用沉淀的方法，可以将不同大小片段的 DNA 全部沉淀下来，对于凋亡的 DNA 提取也非常有效。

用户需自备的试剂与物品

1. 2-ME(β -巯基乙醇) (液态纯 β -mercaptoethanol)、异丙醇、氯仿及 75% 乙醇。
2. 可能需要 RNase A。
3. 1.5ml 离心管
4. 移液器及吸头
5. 一次性手套及防护用品和纸巾
6. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
7. 旋涡振荡器
8. 水浴锅
9. 研钵

注意事项

- 1) 若植物 DNA 提取液有沉淀析出，加热溶解后不影响使用效果。
- 2) 提取的 DNA 可能含有 RNA 污染，但并不影响 PCR 相关实验。如需去除 RNA，可向 DNA 溶液中加入终浓度为 40 μ g/ml 的 RNase A，37℃ 孵育 30 分钟；如果要进一步纯化 RNase A 消化后的 DNA，可选购 A&D 的 PCR 清洁试剂盒 (Cat. No. A-2101050)。或者直接采购 A&D 的 A&DSim 高效植物 DNA 提取试剂盒（柱纯化法，Cat. No. A-3202050）。

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 将水浴锅温度设置到 65℃，并将植物 DNA 提取液温育至 65℃ 备用。

操作步骤：

1a. 液氮破碎

1) 在液氮浸没组织的条件下先将100mg~500mg 的组织（剪碎的叶片/花/茎/根/种子均可）研磨成细小颗粒状，待液氮蒸发后再将组织颗粒快速研磨至粉末状。

* 必须将植物组织研磨至粉末状，才能充分破坏植物细胞的细胞壁，否则将严重影响最终 DNA 的回收效率。

* 如果组织颗粒达不到粉末状，应继续补加液氮研磨。

2) 加入 1ml 植物 DNA 提取液，2 μ l 2-ME(β -巯基乙醇)继续研磨，可将研钵底部放置 65°C 水浴使组织慢慢融化，继续研磨使组织完全裂解。

3) 转移750 μ l 裂解产物至1.5ml 离心管中，将离心管置65°C 水浴30 min。

* 对于葡萄等纤维比较多的组织适当延长时至1小时。

1b. 外力破碎

1) 将 100mg~500mg 的组织（剪碎的叶片/花/茎/根/种子均可），置于研钵或者匀浆器中，加入少量植物 DNA 提取液(100~200 μ l)，用力研磨至匀浆状。

2) 研磨充分后加入植物 DNA 提取液 800~900 μ l（与之前所加植物 DNA 提取液总和是 1ml），2 μ l 2-ME(β -巯基乙醇)继续研磨，使组织完全裂解。

3) 转移750 μ l 裂解产物至1.5ml 离心管中，将离心管置65°C 水浴 30 min。

* 对于葡萄等纤维比较多的组织适当延长时至1小时。

2. 加入750 μ l 氯仿，用力混合均匀，12000rpm,离心5分钟。

3. 小心吸取上清，转入一新的1.5ml 管（这时体积大概有600 μ l）。

* DNA 在上层,宁可少取上清，也不要吸到中间的蛋白。

4. 加0.7体积的异丙醇（约420 μ l），12000rpm，离心10分钟，弃上清。

* 可以直接倒掉上清，但要小心不要倒掉沉淀。

5. 加入1 ml 75%乙醇至离心管中，漩涡振荡数秒重悬 DNA，12,000rpm 离心3分钟，弃上清。

6. 重复步骤5一次，然后低速离心数秒，用200 μ l 吸头小心吸弃残留液体。

7. 室温静置数分钟（约10分钟）使残余乙醇挥发。加入适量（100~200 μ l）灭菌双蒸水或 TE 缓冲液，使 DNA 沉淀溶解。洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于-20°C 备用。

* 不要完全晾干 DNA，否则会使 DNA 难以溶解。

* 若 DNA 溶液中存在不可溶杂质，可于4°C 12,000rpm 离心10 分钟，吸取清澈的 DNA 溶液使用。

* 如果从新鲜的植物样本中提取 DNA，通常都会含有部分 RNA 污染，RNA 污染不影响 PCR 相关实验。

但如果需要完全去除 RNA，参考注意事项2) 内容解决。