

植物 DNA 提取液

产品组成

Cat. No.	3203100
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℃），可在三年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

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. β -巯基乙醇、异丙醇、75%乙醇及 Buffer EX (Simgen, Cat. No. 9025100) (或者氯仿)
2. 可能需要 RNase A (Simgen, Cat. No. 8001001)
3. 1.5 ml 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 1.5 ml 离心管和 2 ml 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 $\mu\text{g/ml}$ 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 DNA 纯化试剂盒 (Simgen, Cat. No. 2101050)。或者直接采购植物 DNA 试剂盒 (柱纯化法, Simgen, Cat. No. 3201050)。

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100~500 mg 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1 ml 植物 DNA 提取液、2 μ l β -巯基乙醇，继续研磨，可将研钵底部放置65 $^{\circ}$ 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1.5 ml 离心管中，将离心管置于65 $^{\circ}$ C水浴30 min，水浴期间每隔8~10分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

* 对于葡萄等纤维比较多的组织适当延长水浴时间至1小时。

1b. 外力破碎

1) 将100~500mg 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1 ml），2 μ l 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1.5 ml 离心管中，将离心管置于65 $^{\circ}$ C水浴30 min，水浴期间每隔8~10分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

* 对于葡萄等纤维比较多的组织适当延长水浴时间至1小时。

2. 加入750 μ l Buffer EX（或者氯仿），用力混合均匀，12000 rpm 离心5分钟。

* Buffer EX（Simgen, Cat. No. 9025100, 用户自备）低毒且不易挥发，无需在通风橱操作，可完美替代氯仿。

3. 小心吸取上清，转入一新的1.5 ml 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），12000 rpm 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，旋涡震荡数秒重悬 DNA，12000 rpm 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 12000 rpm 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。