

## AP1溶液

配制规模： 500ml

试剂名称	终浓度	用量
1M Tris-HCl(pH6.6)	100 mM	50 ml
0.5M EDTA(Ph5.2)	50 mM	50 ml
5M NaCl	500 mM	50 ml
SDS	1.5%	75 ml

SDS为 10%的 SDS溶液加入 75ml。

## AP2溶液

配制规模： 200ml

试剂名称	终浓度	用量
乙酸钾	5 M	98.14 g
PVP10	2%	4 g

最后用乙酸调 pH到 6.2

#注意： PVP10一定要完全溶解后再加入烧杯中。

### 植物基因组 DNA 提取方法

储存事项：

- 裂解液 AP1 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

- 取适量植物组织（新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg）在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
- 转移细粉到一个 1.5ml 离心管，不要解冻，加入 400 μl 缓冲液 AP1 和 4 μl RNase A(10 mg/ml)，漩涡振荡 1 分钟，充分混匀，室温放置 10 分钟。  
注意：由于植物材料多样性非常显著，所取实验材料的最适量需根据材料的不同，或相同材料的不同组织等进行摸索。  
如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。大多数情况下不需要离心去除未完全裂解的组织，因为后面有一个离心去除的步骤。
- 65℃ 水浴 10 分钟，在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次，混合样品。
- 加入 130 μl 缓冲液 AP2，涡旋振荡充分混匀，冰上放置 5 分钟，12,000 rpm 离心 5-10 分钟，小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管，注意不要吸到界面物质。
- 可选步骤：为了去除上清液中的沉淀杂质，使提取基因组 DNA 纯度更高，可将上清液再次 12,000rpm 离心 5 分钟，小心吸取上清到一个干净的 1.5ml 离心管中。
- 计算上清量，加入 0.7 倍体积的异丙醇，充分混匀。此时会出现絮状基因组 DNA。12,000rpm 离心 2 分钟，弃上清。

7. 沉淀加入 700  $\mu$ l 70%乙醇漂洗，12,000rpm 离心 2 分钟，弃上清。

8. 加入 700  $\mu$ l 70%乙醇重复漂洗一次，12,000rpm 离心 2 分钟，弃上清，倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。

注意 DNA 不要干燥过头，否则极其难溶，也不能残留太多乙醇，否则乙醇会抑制下游如 PCR 酶切等反应。

9. 加入适量 TE 溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 分钟 (不要超过一小时)，中间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。