

Edwards DNA 提取法 (中文翻译)

原始文档: DNA isolation for genotyping_Dongdong.docx

来源情况: 该 docx 主体为嵌入图片, 不是普通可编辑文字。我依据文档内手写协议照片, 并参考你提供的 protocols.io 截图, 对流程进行了忠实重建与中文整理。

适用对象: 草莓或拟南芥; 原手写说明强调其适合用于 genotyping PCR。

一、方法概述

Edwards DNA isolation – for strawberry or Arabidopsis

该方法可获得适用于基因分型 PCR 的 DNA。

本步目的: 说明这是一个偏快速、实用型的植物基因组 DNA 提取方法, 重点在于服务后续 PCR 检测, 而非获得超高纯度 DNA。

二、Edwards buffer 配方

组分	终浓度
Tris-HCl, pH 7.5	200 mM
NaCl	250 mM
EDTA	25 mM
SDS	0.5% (w/v)

你提供的 protocols.io 截图还给出了一个 100 mL 配方参考: Tris 3.15 g、EDTA 0.93 g、NaCl 1.46 g、SDS 0.5 g; 先用 HCl 调至 pH 8, 再补足体积, 最后加入 SDS。手写稿只写了终浓度, 我在此将两者都保留为参考信息。

本步目的: 提供裂解和保护 DNA 所需的基础缓冲体系: Tris 稳定 pH, EDTA 螯合金属离子抑制核酸酶, NaCl 维持离子强度, SDS 裂解细胞并促使蛋白变性。

三、DNA 提取流程

1. 取一小块幼嫩叶片 (手写示意为很小的一片, 适合 1.5 mL 管操作), 放入 1.5 mL 离心管中。

本步目的: 选择较嫩、细胞活跃且组织量适中的材料, 既利于裂解, 也避免样品过多导致杂质增加。

2. 用小号蓝色研磨杵初步研磨。

本步目的: 先机械破碎组织, 增加后续缓冲液接触面积。

3. 加入 400 μ L Edwards buffer。

本步目的：开始化学裂解并将 DNA 释放到溶液中。

4. 继续研磨，直到看不到明显大块组织残片。

本步目的：尽可能充分裂解组织，提高 DNA 释放效率。

5. 室温孵育约 15 min。

本步目的：给裂解和溶出过程足够时间，使 DNA 更充分进入上清液。

6. 13,000 rpm 离心 5 min。

本步目的：沉降细胞碎片和大颗粒杂质，便于收集含 DNA 的上清。

7. 转移约 300 μ L 上清到新管中。

本步目的：分离 DNA 溶液与沉淀/残渣，减少后续杂质带入。

8. 加入 300 μ L isopropanol，轻轻颠倒混匀。

本步目的：用异丙醇沉淀 DNA。

9. 室温孵育 5 min。

本步目的：给 DNA 聚集沉淀充分时间。

10. 再次以约 13,000 rpm 离心 5 min。

本步目的：将 DNA 沉淀收集到底部。

11. 倒掉上清。

本步目的：去除沉淀液体相，保留 DNA pellet。

12. 短暂离心约 10 s，使残余液滴集中到底部；用移液器吸尽后，在 37 °C 培养箱中完全晾干约 10 min。

本步目的：清除残余异丙醇，避免抑制后续 PCR；但需避免过度干燥导致 DNA 难以重悬。

13. 加入 50 μ L 蒸馏水 (distilled H₂O) 重悬，4 °C 保存。

本步目的：将 DNA 重新溶解，得到可储存、可使用的模板液。

14. 若条件允许，使用前可放置过夜以帮助充分重悬。

本步目的：让沉淀 DNA 更完全溶解，提升使用一致性。

四、PCR 使用建议

手写稿右下角标注：**Dilute 1:10 for PCR.**

本步目的：适度稀释模板可降低杂质、盐和残留表面活性剂对 PCR 的抑制效应，提高扩增稳定性。

五、说明

注：该文档源文件并非规范排版的文本协议，而是嵌入图片，因此个别细节只能按图片可读内容重建。若你之后拿到原始网页链接或更高清扫描稿，我还可以再帮你做一次更严格的校订版。