



## 植物核 DNA 大量提取试剂盒

### 简介:

从植物组织中制备基因组 DNA 较常采用的方法有氯化离心法、CTAB 抽提法等, CTAB 抽提法是经典且迅速的植物 DNA 提取法, 可以用于多种不同类型植物样品中 DNA 的提取, 获得的量很高但纯度一般, 但是足够用于大多数分子生物学实验。

源叶生物 植物核 DNA 大量提取试剂盒是简单快速简便的提取植物核中 DNA 的试剂盒, 先将新鲜植物样本研磨破碎细胞壁, 采用差速离心法分离出细胞核并将其破碎, 再用 CTAB 抽提液提取出核 DNA, 本法制备量大, 所提 DNA 可供进一步纯化及基因转化使用。该试剂仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

| 名称 \ 编号                   | R24178<br>20T | Storage  |
|---------------------------|---------------|----------|
| 试剂(A): 核分离缓冲液             | 500ml         | 4°C      |
| 试剂(B): 核冲洗缓冲液             | 100ml         | 4°C      |
| 试剂(C): 核储存缓冲液             | 20ml          | 4°C      |
| 试剂(D1): 核裂解缓冲液            | 10ml          | 4°C      |
| 试剂(D2): 蛋白酶 K 溶液(20mg/ml) | 0.5ml         | -20°C 避光 |
| 试剂(E1): CTAB 抽提液          | 10ml          | RT       |
| 试剂(E2): 2-ME              | 0.5ml         | RT 避光    |
| 试剂(F): 蛋白沉淀剂              | 30ml          | 4°C 避光   |
| 试剂(G): CTAB 溶液(10%)       | 2ml           | RT       |
| 试剂(H): DNA 沉淀液            | 50ml          | RT 避光    |
| 试剂(I): DNA 洗涤液            | 50ml          | RT       |



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

|                          |       |      |
|--------------------------|-------|------|
| 试剂(J1): TE Buffer        | 10ml  | RT   |
| 试剂(J2): RNase A(10mg/ml) | 0.1ml | -20℃ |
| 试剂(K): 乙酸铵溶液(7.5M)       | 5ml   | 4℃   |
| 使用说明书                    | 1 份   |      |

## 自备材料:

- 1、液氮、研钵或匀浆器
- 2、离心机、离心管
- 3、冰箱、恒温箱或水浴锅
- 4、二乙醚、异丙醇

## 操作步骤(仅供参考):

### (一)样品处理及分离细胞核

1、称取 10g 幼叶样本或 8g 愈伤组织等，置烧杯中，于通风橱中加入预冷的二乙醚，浸没材料，摇晃 1~2min，倾出二乙醚，预冷的水冲洗样本。

2、用刀片去除叶脉，并分割成小块，转入匀浆器或研钵中，加入预冷的 20ml 的核分离缓冲液，中速匀浆 1~3min，用 4 层无菌平纹细布和 1 层 Miracloth 过滤匀浆至离心管。

3、500r/min 4℃ 离心 10min，弃上清，沉淀用 1~1.3ml 核冲洗缓冲液悬浮，再用 500r/min 4℃ 离心 10min(重复 2~3 次)，使细胞核与细胞碎片分离，收集细胞核样品，细胞核可悬浮于核储存缓冲液中，-70℃ 保存。

### (二)细胞核破碎及 DNA 提取

1、配制核裂解液：按核裂解缓冲液：蛋白酶 K 溶液=1ml：0.025ml 的比例混合即成。

2、将上一步分离的核样品悬浮于 0.25ml 核裂解液中，37℃ 保温 30min；再向其中加入 5ul 2-ME 和 90℃ 预热 0.25ml CTAB 抽提液，立即混匀；再加入 0.5ml 的蛋白沉淀剂，温和地反复颠倒离心管，室温下 10000r/min 离心 10min，



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

上清转入新的离心管。

3、加入 1/10 体积的 CTAB 溶液(10%)[约 0.05ml]，再次加入等体积[约 0.5ml]的蛋白沉淀剂，温和地颠倒混匀离心管，室温下 3500r/min 离心 10min，上清转入新的离心管。

4、加入 1/2~2/3 体积预冷的 DNA 沉淀液，轻轻混匀，室温静置使核酸沉至管底，如果观察不到沉淀，可在室温下静置数小时至过夜。

6、2000g 离心 2min，轻轻弃上清液，松散的 DNA 沉淀物置于小离心管中加入 0.5~1ml DNA 洗涤液，室温静置 10min，4000r/min 离心 10min，收集沉淀，重复操作两次，清除 CTAB。

7、自然干燥 DNA，加入 20 ~ 50 $\mu$ l TE Buffer-RNase A 混合液（1ml+1 $\mu$ l），37℃保温 1h，加入乙酸铵溶液(7.5M)使终浓度为 2.5M，并加入 2 倍体积的预冷无水乙醇，温和混匀，室温放置 10min。

8、室温 15000r/min 离心 10min，收集沉淀，吹干保存，使用时溶于适量 TE Buffer，-20℃保存。注意：TE Buffer 体积越大，DNA 浓度越低。

### 注意事项：

- 1、如果每次的使用量很小，可以适当分装后再使用。
- 2、用于裂解植物组织或叶片越新鲜，裂解越好、收获量越大。
- 3、二乙醚处理材料可促进角质层溶解及细胞破裂。
- 4、提取过程中的机械力可使大分子 DNA 断裂，因此各步操作均应温和，避免剧烈震荡。
- 5、使用到的器皿、离心管最好经过硅化处理。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6 个月有效。