



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	Storage
试剂(A): 核分离缓冲液		20T 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
邮箱: shyysw@sina.com

试剂(J1): TE Buffer	10ml	RT
试剂(J2): RNase A(10mg/ml)	0.1ml	-20°C
试剂(K): 乙酸铵溶液(7.5M)	5ml	4°C
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°C 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°C 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°C 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°C 保温 30min；再向其中加入 5ul 2-ME 和 90°C 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 μ l TE Buffer-RNase A 混合液（1ml+1 μ l），37 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 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。