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

## 植物核 DNA 微量提取试剂盒

# 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 微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裂解, 再用有机溶剂沉淀并去除核蛋白质, 无水乙醇抽提出核 DNA。本法操作情况下, 0.5g 新鲜叶片可得 5~15µg 核 DNA, 纯度较高,可用于基因分子操作(限制酶酶切等)及扩增(PCR、RAPD)等。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:

编	号 R24179	R24179	Storage
名称	50T	100T	Storage
试剂(A): 核提取缓冲液	100ml	2×100ml	4℃ 避光
试剂(B): 核裂解液	50ml	100ml	4°C
试剂(C): 蛋白沉淀剂	50ml	100ml	RT 避光
试剂(D): 柠檬酸缓冲液	25ml	50ml	4°C
试剂(E): TE Buffer	5ml	10ml	RT
试剂(F): RNase A(10mg/ml)	0.05ml	0.1ml	-20℃ 避光
使用说明书		1 份	

# 自备材料:

1、电子天平、滤纸、剪刀、液氮、研钵或匀浆器



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

电话: 021-613129/3 传具:

网址: www.shyuanye.com 邮箱: shyysw@sina.com

- 2、离心机、离心管、冰箱、恒温箱或水浴锅
- 3、蒸馏水、无水乙醇、70%乙醇

## 操作步骤(仅供参考):

#### (一)样品处理及分离细胞核

- 1、称取 0.2~0.3g 新鲜幼叶样本等,用蒸馏水清洗干净,滤纸吸干水分,剪成碎片,置于匀浆器中,然后加入 1ml 核提取缓冲液,匀浆 1min。
- 2、匀浆液转移至离心管,用 1ml 核提取缓冲液清洗匀浆器,并转入离心管中。
- 3、室温下相对离心力 70g 离心 10min,转移上清液至新的离心管中,弃去组织碎片沉淀。上清液再用相对离心力 750g 离心 15min,去上清,保留细胞核沉淀。

#### (二)细胞核裂解及核 DNA 提取

- 1、向细胞核沉淀中加入 1ml 核裂解液, 悬浮沉淀, 60℃水浴 30min。
- 2、加入 0.9ml 蛋白沉淀剂,温和颠倒离心管并混匀,4℃下相对离心力 8500g 离心 15min,转移上清液于新的离心管中。
- 3、向上清中加入 0.5ml 的柠檬酸缓冲液和 2ml 的无水乙醇,混匀,-20℃静置 30min。
  - 4、4℃下相对离心力 8500g 离心 15min,去除上清液。
  - 5、加入 1ml70% 乙醇洗涤沉淀,温箱吹干,即得核 DNA 沉淀。

#### (三)核 DNA 纯化

- 1 、 向 上 述 核 DNA 沉 淀 中 加 入 50~80μl TE Buffer 和 0.8μlRNase A(10mg/ml), 并充分溶解混匀, 37℃保温 1h。
- 2、再加入 80μl 蛋白沉淀剂,温和颠倒离心管并混匀,室温下 10000r/min 离心 10min,转移上层溶液于新的离心管中。
- 3、向上层溶液中加入 2 倍体积的无水乙醇重新沉淀,即得经纯化的核 DNA。
  - 4、经纯化的核 DNA 溶解于 10μl TE Buffer 中。



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: <u>www.shyuanye.com</u> 邮箱: shyysw@sina.com

# 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,裂解效果越好、收获量越大。
- 3、加入柠檬酸缓冲液, 使提取液 pH 下降, 防止核裂解液中的有效成分被 乙醇沉淀。
- 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; 2~8℃运输,按建议温度保存。

