

植物核 DNA 大量提取试剂盒

产品货号: BA1848

产品规格: 20T

产品简介:

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, 但是纯度一般, 但是足够用于大多数分子生物学实验。

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。

产品组成:

产品名称	20T	保存条件
试剂(A): 核分离缓冲液	500ml	2-8℃
试剂(B): 核冲洗缓冲液	100ml	2-8℃
试剂(C): 核储存缓冲液	20ml	2-8℃
试剂(D1): 核裂解缓冲液	10ml	2-8℃
试剂(D2): 蛋白酶 K 溶液(20mg/ml)	0.5ml	-20℃, 避光
试剂(E1): CTAB 抽提液	10ml	室温
试剂(E2): 2-ME	0.5ml	室温, 避光
试剂(F): 蛋白沉淀剂	30ml	2-8℃, 避光
试剂(G): CTAB 溶液(10%)	2ml	室温
试剂(H): DNA 沉淀液	50ml	室温, 避光
试剂(I): DNA 洗涤液	50ml	室温
试剂(J1): TE buffer	10ml	室温
试剂(J2): RNase A(10mg/ml)	0.1ml	-20℃
试剂(K): 乙酸铵溶液(7.5M)	5ml	2-8℃

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 Mira cloth 过滤匀浆至离心管中。
3. 500r/min 4℃ 离心 10min, 去上清。沉淀用 1~1.3ml 核冲洗缓冲液悬浮, 再用 500r/min 4℃ 离心 10min (重复



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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℃预热的 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 10000 r/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 3500 r/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。
5. 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。
6. 自然干燥 DNA，加入 20~50 μl TE buffer- RNase A 混合液(1ml+1ul)，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。
7. 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com