植物核 DNA 大量提取试剂盒

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:

编号 / 名称	GCNE0206 20T	Storage
试剂(A): 核分离缓冲液	500ml	4℃
试剂(B): 核冲洗缓冲液	100ml	4℃
试剂(C): 核储存缓冲液	20ml	4℃
试剂(D1): 核裂解缓冲液	10ml	4℃
试剂(D2): 蛋白酶 K 溶液(20mg/ml)	0.5ml	-20℃ 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℃ 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
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、离心机、离心管、冰箱、恒温箱或水浴锅

2、 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 20～50μl 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。

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。低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0005	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCIH0305	柠檬酸钠抗原修复液(50×)
GCIH0340	免疫染色一抗稀释液
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCPE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
GCPW0082	丽春红 S 染色液(1×Ponceau S)
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)