

植物核DNA微量提取试剂盒

产品货号: 26136

产品规格: 50T/100T

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。

产品组成:

产品名称	50T	100T	保存条件
试剂(A):核提取缓冲液	100ml	2×100ml	2-8℃,避光
试剂(B):核裂解液	50ml	100ml	2-8°C
试剂(C):蛋白沉淀剂	50ml	100ml	室温,避光
试剂(D):柠檬酸缓冲液	25ml	50ml	2-8℃
试剂(E):TE Buffer	5ml	10ml	室温
试剂(F):RNaseA(10mg/ml)	0.05ml	0.1ml	-20℃,避光

自备材料:

- 1. 电子天平、滤纸、剪刀、液氮、研钵或匀浆器
- 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1ml 70%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0.8μl RNase 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。

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。

效 期:6个月。