



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

2×CTAB 提取缓冲液

● 产品编号及规格:

Ver. 730951

货号	名称	规格	贮存
RTG2405-200ml	2×CTAB 提取缓冲液	200 ml	RT
	还原剂	1 ml	RT
RTG2405-500ml	2×CTAB 提取缓冲液	500 ml	RT
	还原剂	1 ml	RT

● 产品介绍:

CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide,十六烷基三甲基溴化铵), 是一种阳离子去污剂,具有从低离子强度溶液中沉淀核酸与酸性多聚糖的特性。在高离子强度的溶液中(>0.7 M NaCl) CTAB 与蛋白质和多聚糖形成复合物而不沉淀核酸。通过有机溶剂抽提, 去除蛋白、多糖、酚类等杂质后加入醇(乙醇或异丙醇) 沉淀即可使核酸分离出来。

2×CTAB 提取缓冲液成分: 2%(w/v, 55 mM)CTAB, 100 mM Tris (pH 8.0), 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 还原剂(随用随加)。

● 储存及运输:

常温贮存一年; 常温运输。

● 实验操作步骤:

一 DNA 提取:

1. 2×即用型 CTAB 提取液配制:

按照终浓度 0.2% (v/v) 加入还原剂, 如 1 ml 2×CTAB 提取缓冲液中加入 2 μ l 还原剂。2×即用型 CTAB 提取液建议现用现配。

2. 材料研磨:

取 0.2-0.5 克新鲜植物材料, 于液氮中研磨成粉末。

3. 样品裂解:

按照每 100 mg 研磨粉末使用 0.5 ml 提取缓冲液的比例将粉末转入 1.5 ml 离心管中, 立即加入 65°C 预热的 2×即用型 CTAB 提取缓冲液, 65°C 水浴 30 分钟, 间歇混匀。

注: 提取缓冲液使用量不要超过 0.7 ml, 否则后续纯化不能在一个离心管内完成; CTAB 溶液在低于 15°C 时会形成沉淀析出, 因此, 在将其加入冰冷的植物材料之前必须预热, 且离心时温度不要低于 15°C。

4. 离心去杂质:

14000 g 常温离心 5 分钟, 转移上清至新的 1.5 ml 离心管中。

5. 去除 RNA:

上清中加入 1/100 上清体积的 RNaseA 溶液 (10 mg/ml) (货号: RN001), 如 500 μ l 上清中加如 5 μ l RNaseA 溶液, 37°C 处理 20 分钟。

6. 第一次抽提纯化:

6.1 步骤 5 溶液中加入等体积的 Tris 酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1), 轻缓颠倒离心管混匀 8-10 次, 常温 14000 g 离心 10 分钟, 保留上清。

6.2. 重复抽提一次。

7. 第二次纯化:

上清中加入等体积氯仿: 异戊醇 (24:1), 颠倒离心管混匀 8-10 次, 常温 14000 g 离心 10

分钟，保留上层水相。

8. 沉淀 DNA:

8.1 将上层水相转入新的 1.5 ml 离心管中，加入 0.6 倍体积的冰冷异丙醇，轻柔混匀，-20℃ 静置 30 分钟；

8.2 14000 g 4℃ 离心 10 分钟。

9. 漂洗 DNA:

9.1 去上清液，加入 1ml 70%乙醇漂洗沉淀，4℃ 14000 g 3 分钟，吸弃乙醇。

9.2 4℃ 14000 g 1 分钟，用移液器吸尽残余乙醇，超净台吹干沉淀。

注：沉淀不能彻底干燥，否则不好溶解。

10. 贮存 DNA:

加入 50-100 μl 的超纯水或 TE 缓冲液溶解 DNA，-20℃ 保存备用。

二 RNA 提取:

注：以下程序请注意所有试剂都要保证 RNase-free。

1. 2×即用型 CTAB 提取液 (RNase-free, 现用现配) 配制:

2×CTAB 提取缓冲液中按照 1/1000 体积加入 DEPC，如 100 ml 中加入 100 μl DEPC，混匀后过夜处理，高温高压，即为 2×即用型 CTAB 提取缓冲液 (RNase-free)。按照终浓度 1 % (v/v) 加入还原剂，如 1 ml 2×CTAB 提取缓冲液 (RNase-free) 中加入 10 μl 还原剂。2×即用型 CTAB 提取液建议现用现配。

2. 材料研磨:

取 0.2-0.5 克新鲜植物材料，于液氮中研磨成粉末。

3. 样品裂解:

按照每 100 mg 研磨粉末使用 0.5 ml 提取缓冲液的比例将粉末转入 1.5 ml 离心管中，立即加入 65℃ 预热的 2×即用型 CTAB 提取缓冲液，65℃ 水浴 30 分钟，间歇混匀。

注：提取缓冲液使用量不要超过 0.7 ml，否则后续纯化不能在一个离心管内完成；CTAB 溶液在低于 15℃ 时会形成沉淀析出，因此，在将其加入冰冷的植物材料之前必须预热，且离心时温度不要低于 15℃。

4. 离心去杂质:

14000 g 常温离心 5 分钟，转移上清至新的 1.5 ml 离心管中。

5. 第一次纯化:

上清中加入等体积的水酚：氯仿：异戊醇 (25: 24: 1)，轻缓颠倒离心管混匀 8-10 次，常温 14000 g 离心 10 分钟。

6. 第二次纯化:

将上清液转入另一 1.5 ml 离心管中，加入等体积氯仿：异戊醇 (24: 1)，颠倒离心管混匀 8-10 次，常温 14000 g 离心 10 分钟。

7. 沉淀 RNA:

将上层水相转入新的 1.5 ml 离心管中，加入 1/2 体积 7.5 M LiCl (RNase-free) (货号: LC1030)，轻柔混匀，-20℃ 静置 30 分钟；14000 g 4℃ 离心 10 分钟。

9. 漂洗 RNA:

9.1 去上清液，沉淀中加入 1ml 70%乙醇 (RNase-free)，吹打漂洗沉淀，14000 g 4℃ 3 分钟，吸弃乙醇。

9.2 14000 g 4℃ 1 分钟，用移液器吸尽残余乙醇，超净台吹干沉淀。

注：RNA 沉淀不能过分干燥，否则不好溶解。

10. 贮存 RNA:

加入 50-100 μl 的 RNase-free 水溶解 RNA，-80℃ 保存备用。