



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@163.com](mailto:real-times@163.com)

## 2×CTAB 提取缓冲液

### ● 产品编号及规格:

Ver. 740662

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、运输及效期:

常温贮存; 常温运输; 有效期 2 年。

注: 环境温度低于 15°C 时, 溶液会有结晶, 37°C 彻底溶化后使用。

### ● 实验操作步骤:

#### 一 DNA 提取:

##### 1.1 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 μl 还原剂。2×即用型 CTAB 提取液建议现用现配。配好后 65°C 预热后备用。

##### 1.2 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。

##### 1.3 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。

##### 1.4 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。

##### 1.5 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 μl 上清中加如 5 μl RNaseA 溶液, 37°C 处理 20 分钟。

##### 1.6 第一次纯化:

步骤 1.5 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, 小心吸取上清到一干净 1.5 ml 离心管中, 不要触及下层。

##### 1.7 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。

#### 1.8 沉淀 DNA:

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；14000 g 4℃ 离心 10 分钟。

#### 1.9 漂洗 DNA:

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

1.9.2 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。

#### 1.10 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。**

#### 2.1 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，随后高温高压，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，配好后 65℃ 预热备用。

#### 2.2 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。

#### 2.3 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℃。

#### 2.4 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。

#### 2.5 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。

#### 2.6 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。

#### 2.7 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 溶液 (RNase-free) (货号: LC1030)，轻柔混匀，-20℃ 静置 30 分钟；14000 g 4℃ 离心 10 分钟。

#### 2.8 漂洗 RNA:

2.8.1 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。

2.8.2 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。

#### 2.9 贮存 RNA:

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