

## 2×CTAB 提取液说明书

### 产品组成

Cat. No.	3203500
2×CTAB 提取液	500 ml
说明书	1 份

### 产品储存与有效期

试剂储存于常温（0~30°C），可在三年内保持使用性能无明显变化。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适用于抽提植物的基因组 DNA。提取方法简单快速，60 分钟内完成多个样品的处理。获得的 DNA 可直接用于 Southern 杂交、PCR、DNA 克隆以及其他相关分子生物学实验操作。因其采用沉淀的方法，可以将不同大小片段的 DNA 全部沉淀下来，对于凋亡的 DNA 提取也非常有效。

### 用户需自备的试剂与物品

1. β-巯基乙醇、Buffer EX（Simgen, Cat. No. 9025100）（或者氯仿）、异丙醇、75%乙醇及 TE Buffer（Simgen, Cat. No. 9006500）
2. 可能需要 RNase A（Simgen, Cat. No. 8001001）
3. 1.5 ml 离心管
4. 移液器及吸头
5. 一次性手套及防护用品和纸巾
6. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
7. 研钵、旋涡振荡器、水浴锅

### 注意事项

1. 若 2×CTAB 提取液有沉淀析出，加热溶解混匀后不影响使用效果。
2. 提取的 DNA 可能含有 RNA 污染，但并不影响 PCR 相关实验。若需去除 RNA，可向 DNA 溶液中加入终浓度为 40 μg/ml 的 RNase A，37°C 孵育 30 分钟；如果要进一步纯化 RNase A 消化后的 DNA，可选购 DNA 纯化试剂盒（Simgen, Cat. No. 2101050）。或者直接采购植物/真菌 DNA 试剂盒（柱纯化法，Simgen, Cat. No. 3200050）。

### 使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 将水浴锅温度设置到 65°C，并将 2×CTAB 提取液温育至 65°C 备用。

## 操作步骤：

### 1a. 液氮破碎

1) 在液氮浸没组织的条件下先将 100~500 mg 的组织（剪碎的叶片/花/茎/根/种子均可）研磨成细小颗粒状，待液氮蒸发后再将组织颗粒快速研磨至粉末状。

\* 必须将植物组织研磨至面粉状才能充分破坏植物细胞的细胞壁，否则将严重影响最终 DNA 的回收效率。

\* 如果组织颗粒达不到面粉状，应继续补加液氮研磨。

2) 加入 1 ml 2×CTAB 提取液、2 μl β-巯基乙醇，继续研磨，可将研钵底部放置 65°C 水浴使组织慢慢融化，继续研磨使组织完全裂解。

3) 转移 750 μl 裂解产物至 1.5 ml 离心管中，将离心管置于 65°C 水浴 30 分钟，水浴期间每隔 8~10 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

\* 对于葡萄等纤维较多的组织适当延长水浴时间至 1 小时。

### 1b. 外力破碎

1) 将 100~500 mg 的组织（剪碎的叶片/花/茎/根/种子均可）置于研钵或者匀浆器中，加入 100~200 μl 2×CTAB 提取液，用力研磨至匀浆状。

2) 研磨充分后加入 800~900 μl 2×CTAB 提取液（与之前所加 2×CTAB 提取液总和是 1 ml），2 μl β-巯基乙醇，继续研磨，使组织完全裂解。

3) 转移 750 μl 裂解产物至 1.5 ml 离心管中，将离心管置于 65°C 水浴 30 分钟，水浴期间每隔 8~10 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

\* 对于葡萄等纤维较多的组织适当延长水浴时间至 1 小时。

2. 加入 750 μl Buffer EX（或者氯仿），用力混合均匀，12000 rpm 离心 5 分钟。

\* Buffer EX（Simgen, Cat. No. 9025100, 用户自备）低毒且不易挥发，无需在通风橱操作，可完美替代氯仿。

3. 小心吸取上清，转入一个新的 1.5 ml 离心管（这时体积大概有 600 μl）。

\* 宁可少吸取上清，也不要吸到中间层的蛋白。

4. 加入 0.7 倍上清体积的异丙醇（约 420 μl），盖上管盖，颠倒混匀，12000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。

\* 可以直接倒掉上清，但要小心不要倒掉沉淀。

5. 加入 1 ml 75%乙醇，盖上管盖，旋涡振荡数秒重悬 DNA，12000 rpm 离心 3 分钟，弃上清。

6. 重复步骤 5 一次，然后低速离心数秒，用 200 μl 吸头小心吸弃残留液体。

7. 室温静置数分钟（约 10 分钟）使残余乙醇挥发。加入适量（100~200 μl）TE Buffer 或去离子水，使 DNA 沉淀溶解。洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。

\* 不要完全晾干 DNA，否则会使 DNA 难以溶解。

\* 若 DNA 溶液中存在不可溶杂质，可于 4°C 12000 rpm 离心 10 分钟，吸取清澈的 DNA 溶液使用。

\* 如果从新鲜的植物样本中提取 DNA，通常都会含有部分 RNA 污染，RNA 污染不影响 PCR 相关实验。但如果需要完全去除 RNA，参考注意事项 2 内容解决。