

# M5 2xCTAB 提取缓冲液

## 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 2xCTAB 提取缓冲液	100ml	MF1124-01
M5 2xCTAB 提取缓冲液	500ml	MF1124-05

**【储存条件】** 常温保存。该试剂低温放置易析出，需 65°C 预热震荡 30min 左右可正常溶解使用。

### 【产品简介】

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 (0.7mol/L NaCl)，CTAB 与蛋白质和多聚糖形成复合物，只是不能沉淀核酸。通过有机溶剂抽提，去除蛋白、多糖、酚类等杂质后加入乙醇沉淀即可使核酸分离出来。

### 【自备试剂】

1: 氯仿-异戊醇 DNA 抽提试剂 24:1 (MF1406)

2: 还原剂巯基乙醇 (B42187)

65°C 预热 CTAB 溶液后，将 1mL 巯基乙醇加入 CTAB 溶液中 (按照 500:1 体积比混合，建议按需配制，请勿多配)。

### 【使用说明】

#### 一：常规步骤

1: 液氮研磨 0.1g 左右植物组织，转移到 1.5mL 离心管中，加入 700uL 2×CTAB 提取液 (已加入还原剂)。或者液氮研磨之后，在研钵中加入 700uL 2×CTAB 提取液，然后吸取到 1.5mL 的离心管中 (建议总体积不要超过 1mL)。

2: 将离心管置于 65°C 水浴 30min-1h，期间每隔 10min 左右轻轻晃动离心管。

3: 水浴完成后冷却 2min，加入 0.5mL 的氯仿-异戊醇混合液，剧烈震荡混匀。10000-12000rpm 离心 5-10min。

**注意：**上步离心后应该会分三层：上层为水相，中间为蛋白和植物碎片，下层为有机相。吸取时避免触及蛋白和有机相。如不小心吸取到中下层，或者中间层较厚，建议少吸取水相，或吸取之后再加入 500uL 氯仿-异戊醇混合液，重新混匀离心取上清。

4: 取上步离心管中上清液到新的离心管中。

5: 在上清中加入等体积的异丙醇，颠倒混匀。(或加入 2 倍体积的无水乙醇和 1/10 体积的 3M pH5.2 的乙酸钠)。置于 -20° C 沉淀 30min 以上，12000rpm 离心 10min，弃上清。

6: 沉淀用 75% 乙醇洗涤 1 次，12000rpm 离心 3-5 min，弃上清，沉淀自然干燥后溶于 50uL 去离子水或者 TE 缓冲液中，加入 1uL RNase (20ug/mL)，37°C 温育 30 min。

7: 置于 -20°C 保存。

## 二：备选步骤

- 1: 可以加入适量 PVP 去除多糖多酚污染。PVP（聚乙烯吡咯烷酮）是酚的络合物，能与多酚形成一种不溶的络合物，有效去除多酚，减少 DNA 中酚的污染；同时它也能和多糖结合，有效去除多糖。
- 2: 可以在加入 CTAB 提取液之后震荡混匀，5000rpm 离心 2min 取上清，沉淀为未研磨充分的碎片或者不溶物。然后在上清中加入氯仿-异戊醇混合液纯化，可以有效去除未裂解的植物碎片。
- 3: 可以在加氯仿-异戊醇混合液之前，加入 Tris 饱和酚（pH>7.8）-氯仿混合液震荡离心取上清后，再用氯仿-异戊醇混合液纯化，可以有效去除蛋白污染。



### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。