



## 2×CTAB 提取缓冲液

货号: LS00066

规格: 500ml

保存: 常温保存, 有效期 1 年。

### 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。

### 使用方法 (仅供参考):

#### 一、试剂准备:

1. 氯仿-异戊醇混合液 (24:1)。96mL 氯仿加 4mL 异戊醇混匀。
2. 65°C 预热 CTAB 溶液后将 1mL 还原剂加入 CTAB 溶液中 (按照 500:1 体积比混合, 建议按需配制, 请勿多配)。

#### 二、操作步骤:

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。
4. 取上步离心管中上清液到新的离心管中。

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。

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。

### 备选方案:

- 1、可以加入适量PVP去除多糖多酚污染。PVP（聚乙烯毗咯烷酮）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。

### 常见问题分析:

问题	原因	对策
DNA样品不纯，抑制后续酶解和PCR反应	DNA中含有蛋白、多糖、多酚类杂质	重新纯化DNA，去除蛋白、多糖、多酚等杂质（具体方法见前）。
	DNA在溶解前，有酒精残留，酒精抑制后续酶解反应	重新沉淀DNA，让酒精充分挥发。
	DNA中残留有金属离子	增加70%乙醇洗涤的次数（2-3次）。
DNA降解，DNA提取量少	实验材料不佳或量少	尽量选用新鲜（幼嫩）的材料。
	破壁或裂解不充分	动植物要匀浆研磨充分；G+菌、酵母裂解前先用生物酶或机械方式破壁；高温裂解时，时间适当延长（对于动物细胞、细菌可增加裂解液的用量）。
	沉淀不完全	低温沉淀，延长沉淀时间；加辅助物，促进沉淀。
	洗涤时DNA丢失	洗涤时，最好用枪头将洗涤液吸出，勿倾倒。