

2×CTAB 提取液使用说明书

产品编号：SL2071

储存条件：常温保存，保质期 2 年。

产品内容：

产品内容	SL2071
2×CTAB 提取液	500mL
还原剂	1mL
说明书	1 份

产品说明：

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：

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℃ 预热 CTAB 溶液后将 1mL 还原剂加入 CTAB 溶液中。

二、操作步骤

- 1、液氮研磨 0.1 g 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℃ 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℃ 沉淀 30min 以上，12000rpm 离心 10min，弃上清。

6、沉淀用 75%乙醇洗涤 1 次，12000 r/min 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 中，加入 1 uL RNase (20 ug/mL)，37 摄氏度温育 30 min。

5、置于-20℃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 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：

问题一：DNA 样品不纯，抑制后续酶解和 PCR 反应。

原因：1. DNA 中含有蛋白、多糖、多酚类杂质

2. DNA 在溶解前，有酒精残留，酒精抑制后续酶解反应

3. DNA 中残留有金属离子

对策：1. 重新纯化 DNA，去除蛋白、多糖、多酚等杂质（具体方法见前）

2. 重新沉淀 DNA，让酒精充分挥发

3. 增加 70%乙醇洗涤的次数（2-3 次）

问题二：DNA 降解，DNA 提取量少。

原因：1. 实验材料不佳或量少

2. 破壁或裂解不充分

3. 沉淀不完全

4. 洗涤时 DNA 丢失

对策：1. 尽量选用新鲜（幼嫩）的材料

2. 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

3. 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）

4. 低温沉淀，延长沉淀时间

5. 加辅助物，促进沉淀

6. 洗涤时，最好用枪头将洗涤液吸出，勿倾倒