

2×CTAB 裂解液（含还原剂）

货号：C8443

规格：500ml

保存：常温保存，有效期 1 年。

产品内容：

产品名称	规格
A 液：CTAB 提取液	500mL
B 液：还原剂	1mL

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℃预热 CTAB 溶液后将 1mL 还原剂加入 CTAB 提取液中制备成 CTAB 工作液（按照 500:1 体积比混合，建议按需配制，请勿多配）。

二、操作步骤（仅供参考）：

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 CTAB 工作液（已加入还原剂）。或者液氮研磨之后，在研钵中加入 700uL CTAB 工作液，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。10000-12000 rpm 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，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℃温育 30 min。
7. 置于-20℃保存。

备选方案：

4. 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。
5. 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。

6. 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。

注意事项：该试剂低温放置易析出，需 50℃预热震荡 30min 左右可正常溶解使用。

