



**北京博凌科为生物科技有限公司**

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ CTAB大量植物基因组DNA快速提取试剂盒
  - ◆ 目录号 141404
  - ◆ 使用手册
  - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

## CTAB 大量植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号: 141404

目录编号	包装单位
141404	10次

### ❖ 适用范围:

适用于快速提取植物基因组DNA

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	10 次
裂解液 PL	室温	100 ml
结合液 PQ	室温	30mlx2 第一次使用前按说明加指定量乙醇
抑制物去除液 IR	室温	100 ml
漂洗液 WB	室温	25 mlx2 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 mlx2
吸附柱 AC	室温	10 个
收集管 (50 ml)	室温	10 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

---

储存事项:

1. 裂解液 PL、结合液 PQ 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 55°C 水浴几分钟帮助重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。



#### ❖ 产品介绍:

改进的经典 CTAB 植物 DNA 抽提液内（添加多种针对植物特点的多糖、多酚去除成份）迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，氯仿抽提后通过离心清除多糖、多酚和蛋白质，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，进一步将多糖、多酚和细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

#### ❖ 产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度，OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 30 kb -50kb，可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。



---

❖ **注意事项**

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到9,000xg，可容纳50ml离心管的台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到65℃备用。
3. 需要自备氯仿/异戊醇（体积比24：1混合）、无水乙醇和β-巯基乙醇。
4. 结合液PQ 和抑制物去除液IR中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
5. 不同来源的植物组织材料中提取DNA 的量会有差异，一般100mg新鲜组织典型产量可达3-25μg。
6. **洗脱液EB不含有螯合剂EDTA**，不影响下游酶切、连接等反应。**也可以使用水洗脱，但应该确保pH大于7.5**，pH过低影响洗脱效率。用水洗脱DNA应该保存在-20℃。DNA如果需要长期保存，可以用TE缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是EDTA可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

---

❖ **标准操作步骤:** (实验前请先阅读注意事项)

**提示:**

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 和结合液 PQ 中加入指定量的无水乙醇, 充分混匀, 加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

⇒ 取所需适量裂解液 PL 放置在 65°C 预热, 使用前加入  $\beta$ -巯基乙醇到终浓度 2%。

1. 取适量植物组织 (新鲜组织 1-2 克 或干重组织 0.3-0.4 克) 在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

2. 转移细粉到一个 50 ml 离心管, 不要解冻, 加 10 ml 65°C 预热的裂解液 PL (确认已加入  $\beta$ -巯基乙醇至 2%), 剧烈涡旋振荡混匀, 用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。

**如果组织裂解困难, 可根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。**

3. 65°C 水浴 30-60 分钟, 在水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

**可选: 如果组织干燥或者产量低, 可以适当延长水浴时间。如果 RNA 残留多, 可在水浴前加入 100 $\mu$ l RNA 酶 (20mg/ml)。**

4. 加入 10 ml 氯仿/异戊醇 (体积比 24: 1 混合), 颠倒充分混匀几分钟 (或者涡旋混匀), 9,000xg 以上离心 10 分钟。

**若提取的植物组织富含多糖多酚, 可以在第 4 步前用等体积酚/氯仿 (1: 1) 抽提一遍。**

5. 小心吸取上清到一个新的 50 ml 离心管, 注意不要吸到界面物质。

**如上清比较浑浊, 则需要重复步骤 4 一遍, 直到得到透亮上清。**

6. 较精确估算上清量, 加入 1.5 倍体积结合液 PQ (**请先检查是否已加入无水乙醇!**) 后立刻涡旋, 充分混匀。此时可能出现沉淀, 但不影响实验结果。

7. 将上一步所得混合物 (包括可能出现的沉淀) 加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放

---

入收集管中) 静置 2 分钟, 9,000xg 离心 2 分钟, 倒掉收集管中的废液 (每次最多可加 20 ml 混合物离心, 弃废液, 再加入剩余的溶液, 再次离心)。

8. 加入 10 ml 抑制物去除液 IR, 9,000xg 离心 2 分钟, 弃废液。
9. 加入 10 ml 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 9,000xg 离心 2 分钟, 弃掉废液。
10. 重复操作步骤 9 一遍。
11. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 最高速 (最好大于 9000xg, 如果离心机转速低, 需要相应延长离心时间) 离心 10-15 分钟以干燥膜基质残留乙醇, 用枪头吸除内圈压环和柱壁之间可能残留的乙醇, 室温或者烘箱晾干几分钟。

**该步骤目的为彻底去除吸附柱中残留乙醇, 残留乙醇抑制下游反应并且严重降低洗脱效率, 降低 DNA 产量。如果洗脱产量低, 则必须加做步骤 12。**

12. **可选步骤:** 选择以下两种方法之一干燥柱子:
  - 1) 取下柱子放置于真空容器中, 密封真空容器, 提供真空 15 分钟;
  - 2) 将柱子放置于 60—65℃真空干燥箱或烘箱中, 放置 10-15 分钟。
13. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 1.5-2ml 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70℃水浴中预热效果更好), 室温放置 3-5 分钟, 9000 xg 离心 4-5 分钟。如果需要较多量 DNA, 可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 离心 2 分钟。

**洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果预计和需要产量高, 可增大洗脱体积, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 1ml, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。**

- ❖ DNA 可以存放在 2-8℃, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20℃。