

Imagene[®]

CTAB Plant DNA Maxi Kit

CTAB 大量植物基因组 DNA 快速提取试剂盒



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

CTAB 大量植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号 DE116

使用说明书

网站: www.codonx.com

咨询电话: 010-56315162

技术支持 QQ: 3090544158

1/适用范围

2/试剂盒组成、储存、稳定性

3/储存事项

4/产品介绍

5/产品特点

6/注意事项

7/操作步骤

1/适用范围:

适用于快速提取植物基因组DNA。

2/试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	10 次 (DE116-01)
裂解液 PB	室温	100 ml
结合液 CL	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 DA	室温	10 个
收集管 CT (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。

3/储存事项:

- 裂解液 PB、结合液 CL 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℃ 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。
- 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。

4/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。

5/产品特点:

- ❖ 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重

复性好。

- ❖ 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
- ❖ 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
- ❖ 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。

6/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. 需要自备氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24：1混合）、无水乙醇和β-巯基乙醇。
4. 结合液CL 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。

7/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 CL 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 PB 放置在 65℃ 预热，使用前加入β-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℃ 预热的裂解液 PB (确认已加入 β -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℃ 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 μ l RNA 酶 (20mg/ml)。

注:如果提取的 DNA 残留 RNA 较多导致电泳时候条带拖尾，条带扭曲，背景很高等不正常电泳情况，可以加 1% RNA 酶 (10mg/ml) 37℃ 或者室温放置半小时即可消化 RNA，消化完后不需要特殊处理便可用于 PCR 或者酶切。

加入 10 ml 氯仿或者氯仿/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。

4. 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。

5. 较精确估算上清量，加入 1.5 倍体积结合液 CL (**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。

6. 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 DA 中，(吸附柱 DA 放入收集管 CT 中) 静置 2 分钟，9,000xg 离心 2 分钟，倒掉收集管 CT 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)。

7. 加入 10 ml 抑制物去除液 IR，9,000xg 离心 2 分钟，弃废液。

8. 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。

9. 重复操作步骤 9 一遍。

10. 将吸附柱 DA 放回空收集管 CT 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。

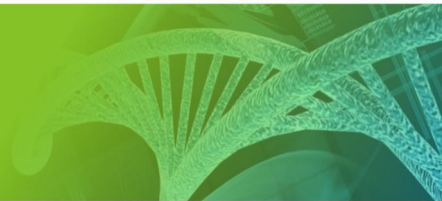
11. **可选步骤：**选择以下两种方法之一干燥柱子：

- 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。

12. 取出吸附柱 DA，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。

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



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St.Economic-Technological Development Area,Beijing,China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com