

CTAB 提取液 (for RNA) 使用说明书

产品编号: ZT1008

储存条件: 常温保存, 保质期 2 年。

产品内容:

产品内容		ZT1008
CTAB 提取液		500mL
还原剂		10mL
套装提供	纯化液 (24:1)	500mL
	4M LiCl 溶液 (RNase-free)	500mL
	SSTE 溶液 (RNase-free)	100mL
	3M 乙酸钠 (RNase-free)	100mL
	70% 乙醇 (RNase-free)	500mL
	DEPC 水	100mL
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 (自备或购买套装)。
- 2、65°C预热 CTAB 提取液。每 15mL CTAB 提取液加入 300uL 的还原剂。
- 3、无水乙醇。

二、操作步骤（需要两天时间）

- 1、离心管中加入 15mL 预热的 CTAB 提取液（已加入 300uL 还原剂）。
- 2、液氮研磨 2-3 g 植物组织，转移到 CTAB 提取液中，涡旋震荡 1min 后置于 65°C 水浴中 5 min。
- 3、水浴完成后冷却 2min，加入 15 mL 的氯仿-异戊醇混合液，剧烈震荡混匀。9,000 rpm 离心 15 min。
- 4、取上步离心管中上清液到新的离心管中，加入 15 mL 的氯仿-异戊醇混合液，剧烈震荡混匀。9,000 rpm 离心 15 min。
- 5、取上步离心管中上清液到新的离心管中，加入等体积的 4M LiCl（终浓度 2M），4°C 沉淀过夜（12-16h）。
- 6、9,000 rpm，4°C 离心 60 min 沉淀 RNA，弃上清。
- 7、在沉淀中加入 500 uL 的 70% 乙醇洗涤沉淀，9,000 rpm 离心 10 min，弃上清。
- 8、在沉淀中加入 500uL 的 SSTE 溶解沉淀，转移至 1.5mL 的离心管中，加入 500uL 的氯仿-异戊醇混合液，震荡混匀，12,000 rpm 离心 1min，将上清小心转移至新的离心管中。
- 9、在上清中加入 1/10 体积的 3M 乙酸钠溶液，2 倍体积的无水乙醇，置于 -20°C 沉淀 2h 或 -80°C 沉淀 30min。
- 10、沉淀用 400uL 的 70%乙醇洗涤沉淀，12,000 rpm 离心 5min，小心吸弃上清，再加入 400uL 无水乙醇（无需吹打），12,000 rpm 离心 5min 后，小心吸弃上清。
- 11、乙醇挥发，RNA 干燥后加入 50-100 uL DEPC 水溶解 RNA。电泳检测后置于 -80°C 保存。