

ゲノム抽出 CTAB 法

試薬

・ 1.5x CTAB 液

Cetyl trimethyl ammonium bromide	10 g
1 M Tris-HCl pH8.0	50 ml
0.5 M EDTA	20 ml
NaCl	41 g
ポリ ビニルピロリドン	5 g

↓

DW 750 ml にメスアップ

・ 沈殿バッファー

Cetyl trimethyl ammonium bromide	10 g
1 M Tris-HCl pH8.0	50 ml
0.5 M EDTA	20 ml

↓

DW 1000 ml にメスアップ

・ 1 M NaCl-TE

NaCl	58.4 g
1 M Tris-HCl pH8.0	10 ml
0.5 M EDTA	2 ml

↓

DW 1000 ml にメスアップ

方法

サンプルを破碎

↓

1.5x CTAB 液 0.7 ml, クロロホルム 0.5 ml を加える

↓

室温で 20 min 振盪

↓

14,000 rpm 5 min 室温で遠心

↓

上清を別のチューブに移し、沈殿バッファー0.5 ml を加え転倒混合

↓

55°C 30 min

↓

14,000 rpm 5 min 室温で遠心

↓

上清を捨て、1 M NaCl-TE 0.5 ml を加える

↓

55°C 2 h 時々チューブを転倒混和し沈殿を溶かす

↓

DNA が完全に溶けたら、14,000 rpm 5 min 室温で遠心

↓

上清を新しいチューブに移し 100%エタノールを 1 ml を加え転倒混合

↓

14,000 rpm 5 min 室温で遠心

↓

上清を捨て、70%エタノールを加え転倒混合

↓

14,000 rpm 2 min

↓

上清を捨てる

↓

10 min 風乾（エタノールが残らないように注意）

↓

TE で 50 ng/μl になるように希釈

文献

M.G. Murray and W. F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, Nucleic Acids Res, 8: 4321-4325