



生物质与生物能源实验室

常用试剂配方手册

2013年7月制

感谢夏涛、王艳婷、邹维华、陈鹏、丰胜求、王令强等老师对本手册的编制工作，提出宝贵的意见。使用过程中，如发现有任何不足和需要增补的内容，欢迎老师和同学们反馈在后附备页上，作为日后修订的重要依据。

主编：李丰成

编委：李英 黄江锋 李傲 万灿 冯永清 熊科 胡振 董舒超

目 录

一. DNA 提取.....	1
CTAB (1.5X)	1
0.5 M EDTA (pH 8.0) 贮存液.....	1
1 M Tris-HCl (pH 8.0) 贮存液	1
氯仿: 异戊醇 (v:v=24:1)	1
75% 乙醇溶液	1
二. RNA 提取.....	2
3 M NaAc (pH 5.2)	2
75% 乙醇溶液	2
三. 大肠杆菌操作	3
LB 培养基	3
低盐 LB 培养基	3
溶液 I.....	3
溶液 II.....	3
溶液 III.....	4
0.1 M CaCl ₂ 溶液.....	4
2 M MgCl ₂ 溶液.....	4
SOB 培养基.....	4
SOC 培养基.....	5
四. 酵母操作	6
YPD 培养基(液体).....	6
YPD 培养基(平板).....	6
YPDA 培养基(液体).....	6
YPDS+Agar	7
溶壁酶(蜗牛酶、纤维素酶 R-10)反应缓冲液.....	7

0.1 M 磷酸缓冲液(pH 7.0)	7
酵母破碎缓冲液.....	7
100 mM PMSF.....	8
酚/氯仿(Tris 饱和酚配制)	8
1.0 M LiAc.....	8
五. 常用抗生素	9
六. 分子标记	10
6%丙烯酰胺胶液	10
5×TBE.....	10
0.5 M EDTA	11
10% AP	11
硅化剂.....	11
染色液.....	11
显影液.....	12
Loading Buffer.....	12
七. 蛋白常用试剂	13
PBS (pH 7.4).....	13
50 mM Tris HCl (pH 8.0)	13
0.5M NaCl (pH 8.0).....	13
100 mM 醋酸钠.....	13
10 mM 还原型谷胱甘肽.....	13
5×SDS Loading buffer.....	14
30%丙烯酰胺母	14
10% AP	14
10% SDS.....	15
1.5 M Tris (pH 8.8).....	15
1.5 M Tris (pH 6.8).....	15
5×Tris-Gly Buffer	15

染色液.....	15
脱色液.....	16
转膜 Buffer.....	16
10×TBS 缓冲液.....	16
TTBS 缓冲液.....	16
封闭液.....	16
DAB/NiCl 显色液.....	17
一抗.....	17
二抗.....	17
八. 纤维素合成.....	18
50 mM Mops buffer.....	18
蛋白酶抑制剂.....	18
去污剂.....	18
九. 组织培养.....	19
N ₆ max 母液 (10X).....	19
N ₆ min 母液 (100X).....	19
Fe ₂ EDTA 贮存液 (100X).....	19
Vitamin 贮存液 (100X).....	20
MSmax 母液 (10X).....	20
MSmin 母液 (100X).....	20
2,4-D 贮存液 (1 mg/ml).....	21
6-BA 贮存液 (1 mg/ml).....	21
NAA 贮存液 (1 mg/ml).....	21
IAA 贮存液 (1 mg/ml).....	21
KT 贮存液 (1 mg/ml).....	21
AS 贮存液 (0.002 M).....	22
1 M KOH 贮存液.....	22
CN 贮存液 (50 mg/ml).....	22
HN 贮存液 (50 mg/ml).....	22

Cef 贮存液 (100 mg/ml).....	22
HgCl ₂ (10 mg/ml) (10X) 贮存液	22
十. 组织染色	23
木质素染色.....	23
胍胍质染色.....	23
纤维素染色.....	23
十一. 细胞壁成分测定	24
0.5 M 磷酸 buffer (pH 7.0).....	24
氯仿-甲醇 (100 ml)	24
DMSO-H ₂ O.....	24
0.5% 草酸铵	24
4 M KOH	24
乙酸-硝酸-水 (8:1:2).....	25
H ₂ SO ₄ -萘酮.....	25
A 试剂 (苔黑酚)	25
B 试剂 (FeCl ₃)	25
67% (v/v) H ₂ SO ₄ -72% (w/w) H ₂ SO ₄	25
2.88% (w/w) H ₂ SO ₄	25
苯-乙醇	26
Na ₂ B ₄ O ₇ -H ₂ SO ₄	26
间羟基联苯溶液.....	26
2% (w/v) NaHCO ₃	26
1 mM EDTA	26
十二. 半纤维素单糖测定	27
0.5 M 磷酸 buffer (pH 7.0).....	27
氯仿-甲醇	27
IS	27
10% NaHB ₄	27

十三. 木质素单体测定	28
苯-乙醇	28
2 M NaOH.....	28
乙基香兰素内标.....	28
二氯甲烷-乙酸乙酯	28
6 M HCl.....	28
流动相.....	28
十四. 纤维素 DP 测定.....	29
1 M 铜乙二胺溶液的制备	29
十五. 细胞壁降解转化	30
醋酸 buffer (pH 4.8)	30
2% NaOH.....	30
1% (v/v) H ₂ SO ₄	30
3.2 g/L 纤维素复合酶液	30
十六. 糖醇转化	31
磷酸 buffer (pH 4.8)	31
5% K ₂ Cr ₂ O ₇	31
十七. 拟南芥消毒、种植	32
次氯酸钠消毒水.....	32
MS 培养基（固体）	32
MS 培养基（液体）	32
1/2 MS 培养基（固体）	33
1/2 MS 培养基（液体）	33

注：[]为分子量。

一. DNA 提取

CTAB (1.5X)

CTAB 十六烷基三甲基溴化铵.....15 g
1 M Tris-HCl (pH 8.0).....75 ml
0.5 M EDTA (pH 8.0).....30 ml
NaCl [58.5].....61.4 g
单蒸水定容至1L，室温保存。

0.5 M EDTA (pH 8.0) 贮存液

Na₂EDTA · 2H₂O [372.24].....186.1 g
NaOH [40]20 g
ddH₂O [18]800 ml
调节pH至8.0，单蒸水定容至1L。

1 M Tris-HCl (pH 8.0) 贮存液

Tris Base.....121.1 g
浓HCl.....42 ml
ddH₂O.....800 ml
调节pH至8.0，单蒸水定容至1L。

氯仿：异戊醇 (v:v=24:1)

配制100 ml 溶液，氯仿96 ml，异戊醇4 ml。

75% 乙醇溶液

无水乙醇:ddH₂O(v/v)=3:1，终浓度为75%。

二. RNA 提取

3 M NaAc (pH 5.2)

NaAc [82.08].....24.624 g

冰醋酸调节pH至5.2,

DEPC处理过的双蒸水定容至100 ml。

75% 乙醇溶液

无水乙醇:ddH₂O(v/v)=3:1, 终浓度为75%。

采用DEPC处理过的双蒸水配制。

三. 大肠杆菌操作

LB 培养基

NaCl [58.5]10 g

蛋白胨.....10 g

酵母提取物.....5 g

单蒸水定容至 1 L，固体添加 15 g 琼脂。

121°C 灭菌 20 分钟，冷到 55°C 左右，加抗生素。

低盐 LB 培养基

（用于 Zeocin 抗生素）

NaCl [58]5 g

蛋白胨.....10 g

酵母提取物.....5 g

单蒸水定容至 1 L，固体添加 1.5%琼脂。

121°C 灭菌 20 分钟，冷到 55°C 左右，加抗生素 Zeocin，避光 4°C 保存。

溶液 I

葡萄糖 Glucose·H₂O [198]0.99 g

0.5 M EDTA (pH 8.0)2 mL

1 M Tris (pH 8.0)2.5 mL

单蒸水定容至 100 mL，高压灭菌 4°C 保存。

溶液 II

NaOH [40]0.80 g

SDS [288].....1.0 g

单蒸水至 100 mL，4°C 保存。

溶液 III

乙酸钾 [98].....29.4 g
冰醋酸 [60]11.5 mL
单蒸水定容至 100 mL，4℃ 保存。

0.1 M CaCl₂ 溶液

CaCl₂·2H₂O [147]1.47 g
ddH₂O 定容至 100 mL。

注意事项:

- 灭菌后 4℃ 预冷，新鲜配制使用。

2 M MgCl₂ 溶液

MgCl₂ [95]19 g
单蒸水定容至 100 mL，灭菌 20 min。

SOB 培养基

- 1) 蛋白胨20 g
酵母提取物.....5 g
NaCl [58.5].....0.5 g
加入 950 mL 单蒸水，玻璃棒搅拌至完全溶解。
- 2) 加 10 mL 250 mM KCl 溶液，
KCl [74.5]1.86 g
单蒸水定容至 100 mL。
- 3) 5 M NaOH 调 pH 值至 7.0，单蒸水定容至 1 L，灭菌 20 min;
NaOH [40].....2 g
单蒸水定容至 10 mL。
- 4) 使用前，加入 5 mL 灭菌的 2 M MgCl₂。

SOC 培养基

1) 1 M 葡萄糖溶液:

葡萄糖 $\text{Glucose}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [198].....19.8 g

加单蒸水定容至 100 mL，用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

2) 向 100 mL SOB 培养基中加入除菌的 1 M 的葡萄糖溶液 2 mL，混匀。

3) 配好后分装，1 mL 每管，用封口膜封好， -20°C 保存。

四. 酵母操作

YPD 培养基(液体)

酵母提取物.....10 g

蛋白胨.....20 g

溶解在单蒸水 900 ml 中，35 分钟液体灭菌(liquid cycle)后，

加 100 ml 灭过菌的浓度为 20%的右旋葡萄糖(Dextrose)。

YPD 培养基(平板)

酵母提取物.....10 g

蛋白胨.....20 g

(制备平板，再加 20 g 琼脂 Agar)

溶解在单蒸水 900 ml 中，35 分钟液体灭菌(liquid cycle)后，

加 100 ml 灭过菌的浓度为 20%的右旋葡萄糖(Dextrose)。

YPDA 培养基(液体)

酵母提取物.....10 g

蛋白胨.....20 g

腺嘌呤 [135]0.03 g

溶解在单蒸水 900 ml 中，35 分钟液体灭菌(liquid cycle)后，

加 100 ml 灭过菌的浓度为 20%的右旋葡萄糖(Dextrose)。

YPDS+Agar

酵母提取物.....10 g

蛋白胨.....20 g

山梨醇 (Sorbitol)182.2 g

(制备平板, 再加 20 g 琼脂 Agar)

溶解在单蒸水 900 ml 中, 35 分钟液体灭菌(liquid cycle)后,

加 100 ml 灭过菌的浓度为 20%的右旋葡萄糖(Dextrose),

冷却后, 加抗生素。

溶壁酶(蜗牛酶、纤维素酶 R-10)反应缓冲液

山梨醇 [182]21.84 g

加 0.1 M 磷酸缓冲液定容至 100 mL。

0.1 M 磷酸缓冲液(pH 7.0)

1) Na_2HPO_4 577 mL 0.1 M

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ [358].....20.665 g

溶于单蒸水定容至 1L

2) NaH_2PO_4 423 mL 0.1 M

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [156]6.599 g

溶于单蒸水定容至 1 L。

3) 混匀。

酵母破碎缓冲液

$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [372.24].....0.186 g

DTT [154]0.077 g

甘油50 mL

PMSF10 mL 100 mM (现用现加)。

加入 0.1 M 磷酸缓冲液定容至 1 L。

100 mM PMSF

PMSF (Sigma, p7626) [174].....0.1742 g

加入 10 mL 异丙醇, -20°C 保存。

酚/氯仿(Tris 饱和酚配制)

Tris 饱和酚.....40 mL

氯仿 [119].....40 mL

Tris 缓冲液.....20 mL

注意事项:

- 使用前需确认购买的 Tris 饱和酚是黄色, 如已经变为红色则不可用;
- 先将 Tris 饱和酚和氯仿混合后再加 Tris 缓冲液液封;
- 充分混匀后 4°C 静置过夜方可使用, 4°C 保存。

1.0 M LiAc

LiAc [66]6.5990 g

加灭菌单蒸水定容至 100 mL, 用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

五. 常用抗生素

	母液浓度	工作浓度	溶剂	储藏温度	备注
Amp	100 mg/mL	100 ug/ml	ddH ₂ O	4°C	过滤灭菌
Kan	50 mg/mL	50 ug/ml	ddH ₂ O	4°C	过滤灭菌
Spec	100 mg/mL	100 ug/ml	甲醇	4°C	无需灭菌
Rif	50 mg/mL	50 ug/mL	DMSO	4°C	过滤灭菌

六. 分子标记

6%丙烯酰胺胶液

尿素 [60.06].....	840 g
丙烯酰胺 [71.8].....	114 g
甲叉-丙烯酰胺 [154.2]	6 g
5×TBE 缓冲液.....	200 mL
单蒸水定容至 2 L。	

注意事项:

- 穿带实验服、口罩、手套，避免污染和中毒；
- 磁力搅拌器搅拌至清澈；
- 使用前用双层滤纸过滤；
- 4°C 保存。

5×TBE

Tris-base [111]	54 g
H ₃ BO ₃ [61.83]	27.5 g
0.5M EDTA (pH 8.0)	20 mL
单蒸水定容至 1 L	

注意事项:

- 可用温水加速溶剂溶解；
- 室温保存。

0.5 M EDTA

Na₂EDTA·2H₂O [372.24].....93.06 g

NaOH [40].....10 g

单蒸水定容至 500 mL。

注意事项：

- 调 pH 为 8.0；
- 高温高压灭菌后，室温保存。

10% AP

AP [228].....4 g

单蒸水定容至 40 mL，放久易失效。

注意事项：

- 溶解后保存在 4°C。

硅化剂

氯仿或无水乙醇.....500 mL

二氯二甲基硅烷.....25 mL

总体积 525 mL

注意事项：

- 摇床上摇匀过夜；
- 室温保存。

染色液

硝酸银 [170]2 g

单蒸水定容至 2 L。

注意事项：

- 避光保存。

显影液

NaOH [40]30 g

无水 Na₂CO₃ [106]0.6 g

单蒸水定容至 2 L。

注意事项：

- 使用前降温至 4°C 使用。

Loading Buffer

0.5 M EDTA (pH 8.0)1 mL

溴酚蓝.....0.1 g

二甲苯菁.....0.1 g

去离子甲酰胺定容至 50 mL

注意事项：

- 配制时先精确称量溴酚蓝和二甲苯菁，转入 50 mL 容量瓶中，再加入 0.5 M EDTA，用去离子甲酰胺定容至 50 mL；
- 在通风橱中进行。

七. 蛋白常用试剂

PBS (pH 7.4)

NaCl [58.5]40 g
KCl [74.5].....1 g
KH₂PO₄ [136.09]1.2 g
Na₂HPO₄·12H₂O [358.14].....18.1 g
单蒸水定容至 5 L。

50 mM Tris HCl (pH 8.0)

Tris [121.14].....6.055 g
溶于 900ml 单蒸水中，用 HCl 调 pH 到 8.0 后定容至 1 L。

0.5M NaCl (pH 8.0)

NaCl [58.5].....29.25 g
溶于 900 ml 水中，用 NaOH 调 pH 到 8.0 后定容至 1 L。

100 mM 醋酸钠

醋酸钠 [82.03]8.2 g
溶于 1 L 单蒸水中。

10 mM 还原型谷胱甘肽

还原性谷胱甘肽 [307.32].....0.15366 g
溶于 50 ml 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)中。

5×SDS Loading buffer

1 M Tris-HCl.....12.5 ml

SDS [288.38]5 g

溴酚蓝 [607.02]0.25 g

甘油25 ml

H₂O12.5 ml

使用前按上述配方配50 ml 的总量，使用时分装小管，
每1 ml buffer加50 ul 巯基乙醇。

30%丙烯酰胺母

丙烯酰胺 [71.08]29 g

N, N'-亚甲基双丙烯酰胺 [54.16].....1 g

溶于60 ml去离子水中，搅拌加热溶解后，

补单蒸水至终体积为100 ml。

注意事项：

- 配置时戴口罩，手套，剧毒；
- 由于固体的体积比较多，所以加水的总体积大约为 80 ml；
- 分析滤纸过滤至用锡纸包的瓶中，4℃保存；
- 在烧杯中配制，提前量好烧杯的 100 ml 的刻度，做记号；
- 因为固体占较多体积，所以加水的总体积少于 100 ml。

10% AP

过硫酸铵 [228.20]0.1 g

溶于1 ml单蒸水。

注意事项：

- 一次配 2-3 ml 即可，放久易失效。

10% SDS

SDS [288.38]5 g

加单蒸水 50 ml。

1.5 M Tris (pH 8.8)

Tris [121.14]18.15 g

溶于80 ml 去离子水中，调pH至8.8，定容至100 ml。

1.5 M Tris (pH 6.8)

Tris [121.14]18.15 g

溶于80 ml 去离子水中，调pH至6.8，

定容至100 ml。

5×Tris-Gly Buffer

Tris [121.14]15.1 g

甘氨酸 [75.07]94 g

10% SDS.....50 ml

单蒸水定容至 1 L。

染色液

考马斯亮蓝R-250 [824].....1 g

冰乙酸.....100 ml

异丙醇.....250 ml

单蒸水定容至 1 L。

脱色液

冰乙酸.....100 ml
乙醇.....50 ml
单蒸水定容至 1 L。

转膜 Buffer

Tris [121.14]3.0 g
甘氨酸 [75.07]14.4 g
SDS [3.7]10 ml
甲醇.....200 ml
单蒸水定容至 1 L。

10×TBS 缓冲液

Tris [121.14]12.1 g
NaCl [58.5]87.7 g
溶于 800 ml 单蒸水中，用 HCl 调 pH 至 8.0 定容至 1 L。

TTBS 缓冲液

1×TBS缓冲液.....100 ml
Tween20.....50 ul

封闭液

5 g 脱脂奶粉溶于100 ml TTBS中。

注意事项:

- 封闭液在冰箱中长时间存储，容易长菌。使用前，应检查是否污染。并且应根据实际需求进行配制，以免造成浪费。

DAB/NiCl 显色液

100mM Tris-HCl (pH 7.5)	10 ml
DAB储存液 [40].....	200 ul
NiCl溶液 [80].....	50 ul
30% H ₂ O ₂	30 ul

一抗

一般按1：1000稀释，即在15 ml TTBS中加入15 ul抗体。
如果抗体的效价较低，可增加抗体的浓度。

二抗

一般按照1：5000稀释，即15 ml TTBS中加入3 ul羊抗兔的二抗。
二抗浓度不宜过高，不然杂交时会出现非特异性条带。
二抗是公用的，只能使用15次，因此每用1次，都应做上记号。

八. 纤维素合成

50 mM Mops buffer

Mops [209.30]10.464 g,

蔗糖 [342.29]85.576 g

加单蒸水约 900 ml, 用 NaOH 调 pH 至 7.5, 然后定容至 1 L。

蛋白酶抑制剂

所有蛋白酶抑制剂来源于Sigma公司

1> 0.1 M PMSF

取0.1742 g PMSF, 溶于10 ml异丙醇, 注意反复震荡促其溶解。

2> 1 mM pepstainA

取0.0008 g pepstainA溶于1 ml甲醇, 注意称取量很小时称量纸不归零。

3> 1 mM leupeptin

取0.0014 g leupeptin溶于3 ml单蒸水中。

去污剂

1% digitonin (毛地黄皂苷 1229.31)

Digitonin0.01 g

溶于1 ml单蒸水中。

九. 组织培养

N₆max 母液 (10X)

硝酸钾/KNO ₃ [101.10]	28.3 g
磷酸二氢钾/KH ₂ PO ₄ [136.09]	4.0 g
硫酸铵/(NH ₄) ₂ SO ₄ [132.14]	4.63 g
硫酸镁/MgSO ₄ · 7H ₂ O [246.47]	1.85 g
无水氯化钙/CaCl ₂ [110.98]	1.66 g

逐一依次溶解，室温下单蒸水定容至1 L，4°C保存备用。

N₆min 母液 (100X)

碘化钾/KI [166].....	0.08 g
硼酸/H ₃ BO ₃ [61.83].....	0.16 g
硫酸锰/MnSO ₄ ·H ₂ O [169.02].....	0.44 g
硫酸锌/ZnSO ₄ ·7H ₂ O [287.56].....	0.15 g

室温下单蒸水定容至1 L，4°C保存备用。

Fe₂EDTA 贮存液 (100X)

在一个大三角瓶中加入300 ml 蒸馏水和FeSO₄ · 7H₂O [278.02] 2.78 g;
在另一个大三角瓶中加入300 ml 蒸馏水并加热至70°C,
然后加入Na₂EDTA · 2H₂O [372.24] 3.73 g,
充分混合溶解后，70°C水浴中螯合2小时，定容至 1 L，4°C保存备用。

Vitamin 贮存液 (100X)

烟酸/Nicotinic acid [123.11]	0.05 g
维生素B1/Thiamine HCl (VB1) [337.27]	0.1 g
维生素B6/Pyridoxine HCl (VB6) [205.64]	0.05 g
甘氨酸/Glycine [75.07]	0.2 g
肌醇/Inositol [180.16].....	10 g

双蒸水定容至1 L，避光4°C保存备用。

MSmax 母液 (10X)

硝酸铵/ NH_4NO_3 [80.04]	16.5 g
硝酸钾/ KNO_3 [101.01]	19.0 g
磷酸二氢钾/ KH_2PO_4 [136.09]	1.7 g
硫酸镁/ $\text{Mg}_2\text{SO} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [246.47]	3.7 g
无水氯化钙/ CaCl_2 [110.98]	3.33 g

室温下溶解，单蒸水定容至1 L，4°C保存备用。

MSmin 母液 (100X)

碘化钾/KI [166]	0.083 g
硼酸/ H_3BO_3 [61.83]	0.62 g
硫酸锰/ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [169.02]	0.652 g
钼酸钠/ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [241.95].....	0.025 g
硫酸铜/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ [249.68].....	0.0025 g
氯化钴/ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [206.92]	0.0025 g

室温下溶解，单蒸水定容至1 L。

2,4-D 贮存液 (1 mg/ml)

2,4-D $C_8H_6Cl_2O_3$ [221.04]100 mg.

1 ml 1 M KOH 溶解5分钟，然后加入10 ml加热后的单蒸水溶解完全。

定容至100 ml，室温保存备用。

6-BA 贮存液 (1 mg/ml)

6-BA $C_{12}H_{11}N_5$ [225.26].....100 mg.

1 ml 1 M KOH 溶解5分钟，然后加10 ml 单蒸水溶解完全后

定容至100 ml，室温保存备用。

NAA 贮存液 (1 mg/ml)

NAA $C_{12}H_{10}O_2$ [186.21]100 mg.

1 ml 1 M KOH 溶解5分钟，然后加10 ml 单蒸水溶解完全后

定容至100 ml，4°C保存备用。

IAA 贮存液 (1 mg/ml)

IAA $C_{10}H_9NO_2$ [175.19]100 mg.

1 ml 1 M KOH 溶解5分钟，然后加10 ml 单蒸水溶解完全后

定容至100 ml，4°C保存备用。

KT 贮存液 (1 mg/ml)

KT $C_{10}H_9N_5O$ [215.21]100 mg.

1 ml 1 M HCl 溶解5分钟，然后加10 ml 单蒸水溶解完全后

定容至100 ml，4°C保存备用。

AS 贮存液 (0.002 M)

乙酰丁香酮/AS [196.20]0.392 g

二甲基亚砷/DMSO.....10 ml

分装至1.5 ml 离心管内，4°C保存备用。

1 M KOH 贮存液

氢氧化钾/KOH [56.11].....5.6 g

单蒸水溶解定容至 100 ml，室温保存备用。

CN 贮存液 (50 mg/ml)

羧苄青霉素二钠盐 Carbenicillin Disodium Salt [225.16]

0.5 g CN 溶于 10 ml 双蒸水中(50 mg/ml)。

注意事项:

- 分装后，-20°C 避光保存。CN 在水溶液中会逐渐分解，配后不宜长期存放。

HN 贮存液 (50 mg/ml)

潮霉素 B Hygromycin B $C_{20}H_{37}N_3O_{13}$ [527.53]

液体贮存液(50 mg/ml): 20 ml(灭菌的 PBS 中保存)

Cef 贮存液 (100 mg/ml)

头孢霉素 Cefotaxime Sodium Salt $C_{16}H_{16}N_5NaO_8S_2$ [477.45]

0.1 g Cef 溶于 1 ml 双蒸水中(100 mg/ml)，分装后-20°C 避光保存。

HgCl₂ (10 mg/ml) (10X) 贮存液

HgCl₂10 g

溶于 1 L 双蒸水中(10 mg/ml)，室温避光保存。

使用时将母液稀释成 1 倍使用。

十. 组织染色

木质素染色

5 % (w/v) 间苯三酚

间苯三酚.....5 g

溶于 100 mL 95%乙醇中

注意事项:

- 间苯三酚为白色粉末，见光易氧化，变为褐色或棕色则不能使用。
- 间苯三酚易氧化，乙醇易挥发，因此溶液最好现配现用。
- 染色用量不大，建议每次配 5-10 mL。

胼胝质染色

1> 0.07 M 磷酸盐缓冲液 (pH 9.0)

Na₂HPO₄.....2.507 g

溶于 100 mL 单蒸水，

用 4 M NaOH 调 pH 至 9.0

2> 脱色苯胺蓝(Decolorized aniline blue stain, DABS)

Aniline Blue.....5 mg

溶于 0.07 M 磷酸缓冲液，定容至 100 mL。

注意事项:

- 溶液静置褪色成无色后使用。
- DABS 将胼胝质(Callose)在紫外光下产生黄绿色荧光。

纤维素染色

1> 0.1 M Tris-HCl (pH 8.5)

Tris-base.....1.5764 g

溶于 80 mL 单蒸水，HCl 调 pH 至 8.5，定容至 100 mL

2> 荧光增白剂 (Calcofluor) 浸没样品约 2.5 μ l。

十一. 细胞壁成分测定

0.5 M 磷酸 buffer (pH 7.0)

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ [228.22].....70.1 g

KH_2PO_4 [136].....26.1 g

单蒸水定容至 1 L。

氯仿-甲醇 (100 ml)

氯仿.....50 mL

甲醇.....50 mL

DMSO-H₂O

二甲亚砜(DMSO) [78].....90 mL

单蒸水.....10 mL

0.5% 草酸铵

草酸铵 [124].....2.5126 g

H₂O.....500 mL

4 M KOH

KOH [56].....112 g

NaHB₄ [37.8].....500 mg

单蒸水定容至 0.5 L

注意事项:

- 配制时烧杯冷水浴降温，向 KOH 中缓慢加入单蒸水，并用玻棒搅拌降温。

乙酸-硝酸-水 (8:1:2)

乙酸.....80 mL
硝酸.....10 mL
H₂O.....20 mL

H₂SO₄-蒽酮

蒽酮 [194].....0.2 g
浓硫酸.....100 mL

A 试剂 (苔黑酚)

苔黑酚 [142].....0.6 g
无水乙醇.....10 mL

B 试剂 (FeCl₃)

FeCl₃ [270].....0.1 g
浓盐酸.....100 mL

67% (v/v) H₂SO₄-72% (w/w) H₂SO₄

浓硫酸: 332.5 mL 溶于 150 mL 水,
冷却后用单蒸水定容至 500 mL。

2.88% (w/w) H₂SO₄

72% (w/w) H₂SO₄.....10 mL
单蒸水定容至 250 mL。

苯-乙醇

苯 [78].....67 mL

乙醇.....33 mL

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\text{-H}_2\text{SO}_4$

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ [381].....0.5 g

H_2SO_4100 mL

间羟基联苯溶液

间羟基联苯0.15 g

NaOH [40].....0.5 g

单蒸水定容至 100 mL。

2% (w/v) NaHCO_3

NaHCO_3 [84].....2 g

单蒸水.....100 mL

1 mM EDTA

$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [372.24].....0.372 g

单蒸水定容至 1 L。

十二. 半纤维素单糖测定

0.5 M 磷酸 buffer (pH 7.0)

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ [228.22].....70.1 g
 KH_2PO_4 [136.09].....26.1 g
单蒸水定容至 1 L。

氯仿-甲醇

氯仿.....50 mL
甲醇.....50 mL

IS

肌醇 [180].....0.2 g
水.....100 ml

10% $NaHB_4$

$NaHB_4$ [37.8].....1 g
氨水10 ml

十三. 木质素单体测定

苯-乙醇

苯 [78].....67 mL
乙醇.....33 mL

2 M NaOH

NaOH [40].....80 g
用水定容至 1 L。

乙基香兰素内标

乙基香兰素.....0.4 g
2 M NaOH [40].....100 ml

二氯甲烷-乙酸乙酯

二氯甲烷.....500 ml
乙酸乙酯.....500 ml

6 M HCl

浓盐酸.....100 ml
水.....100 ml

流动相

甲醇.....250 ml
乙醇.....10 ml
水.....740 ml

十四. 纤维素 DP 测定

1 M 铜乙二胺溶液的制备

称取 100 g 分析纯硫酸铜，放入盛有 800 ml 蒸馏水的 1 L 烧杯中，加热至沸腾，（这步直接加入沸水就行）。

待硫酸铜全部溶解后，在磁力搅拌器的搅拌下，缓慢加入约 58 ml 浓氨水，使硫酸溶液由最初的蓝色转变为翠绿色，最后变为蓝色。继续搅拌 20 min 后，静置，使其沉淀。

用广泛 pH 试纸测试上部清液，如呈弱碱性，则氨水过量，可用 1:5 的硫酸中和。倾去上部清液，用倾斜法反复洗涤沉淀。先用热蒸馏水洗 4 次，再用冷蒸馏水洗若干次。在搅拌器的不断搅拌下加入约 400 ml 蒸馏水，搅拌 10 min 后，静置。当洗至用 10% 氯化钡溶液检验清液中无硫酸根离子时为止。最后加入足够的蒸馏水于沉淀物中，使总体积为 600 ml，置于冰箱中，冷却至 10°C 以下。

取出后，不断搅拌，并缓慢加入 340 ml 20% 的氢氧化钠溶液（预先冷却氢氧化钠溶液），再用倾斜法反复洗涤氢氧化铜沉淀，至清液用酚酞检验无色时为止（约 13 次）。然后，用足量的蒸馏水将氢氧化铜沉淀移入棕色细口瓶中，使总体积为 250 ml，再加入无水乙二胺 40 g（含量 98% 的约加入 45 ml），摇匀后，静置 1—2 天。将上层清液缓缓倒入量筒中记下体积，移入另一棕色瓶中（原棕色瓶中的黑色沉淀弃去），以备标定。

十五. 细胞壁降解转化

醋酸 buffer (pH 4.8)

NaAc [82.03].....49.2 g
冰醋酸.....28.88 ml
单蒸水定容至 5 L。

2% NaOH

NaOH [40].....2 g
水.....98 ml

1% (v/v) H₂SO₄

H₂SO₄.....1 ml
单蒸水定容至 100 ml。

3.2 g/L 纤维素复合酶液

纤维素复合酶.....0.32 g
醋酸 buffer (pH 4.8)100 ml

十六. 糖醇转化

磷酸 buffer (pH 4.8)

Na_2HPO_4 [141.96].....0.284 g

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [156.01].....31.2 g

单蒸水定容至 1 L。

5% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [294.19].....5 g

单蒸水.....50 mL

浓硫酸.....10 mL

单蒸水定容至 100 mL。

十七. 拟南芥消毒、种植

次氯酸钠消毒水

NaClO 溶液.....100 ml

Triton X-100.....100 μ l

单蒸水定容至 1 L。

MS 培养基（固体）

20×大量元素.....50 ml

100×EDTA-Fe.....10 ml

1000×微量元素.....1 ml

蔗糖.....10 g

琼脂.....10 g

单蒸水定容至 1 L，

KOH 调 pH 至 5.8。

MS 培养基（液体）

20×大量元素.....50 ml

100×EDTA-Fe.....10 ml

1000×微量元素.....1 ml

蔗糖.....10 g

单蒸水定容至 1 L，

KOH 调 pH 至 5.8。

1/2 MS 培养基（固体）

20×大量元素.....25 ml
100×EDTA-Fe.....5 ml
1000×微量元素.....500 μl
蔗糖.....10 g
琼脂.....10 g
单蒸水定容至 1 L,
KOH 调 pH 至 5.8。

1/2 MS 培养基（液体）

20×大量元素.....25 ml
100×EDTA-Fe.....5 ml
1000×微量元素.....500 μl
蔗糖.....10 g
单蒸水定容至 1 L,
KOH 调 pH 至 5.8。

备 页

备 页

备 页

备 页