



华中农业大学
生物质与生物能源研究中心

试剂配方手册

2018年6月制

编者名单

主编：李 英 李丰成

编委：黄江锋 范春芬 胡慧贞 李 傲

徐 雯 孙 丹 汪 洋 胡 振

熊 科 张贵粉 蔡秋铭 赵雯悦

责编：王艳婷 涂媛苑

2013年9月第1次编印

2018年6月第2次修订

目 录

DNA 提取	9
CTAB (1.5×).....	9
EDTA 贮存液 (pH 8.0, 0.5 mol/L)	9
Tris·HCl 贮存液 (pH 8.0, 1 mol/L)	9
氯仿:异戊醇 (24:1)	9
75% 乙醇溶液	9
10% SDS (w/v).....	10
TE Buffer (1×).....	10
蛋白酶 K (20 mg/mL)	10
NaAc (5mol/L).....	10
RNA 提取	11
1 水稻、拟南芥 RNA 提取	11
TRIzol 法提取 RNA.....	11
NaAc (pH 5.2, 3 mol/L).....	11
75% 乙醇溶液	11
2 棉花 RNA 提取 (CTAB-PVP 法)	12
CTAB 法抽提 RNA	12
SSTE 法	12
热硼酸法.....	13
大肠杆菌操作	14
LB 培养基	14
低盐 LB 培养基	14
溶液 I.....	14
溶液 II.....	14
溶液 III.....	15
CaCl ₂ 溶液 (0.1 mol/L)	15
MgCl ₂ 溶液 (2 mol/L)	15
30% 甘油 (丙三醇)	15
SOB 培养基.....	16

SOC 培养基.....	16
酵母操作	17
YPD 培养基（液体）	17
YPD 培养基（固体）	17
YPDA 培养基（液体）	17
YPDS 培养基（固体）	18
溶壁酶（蜗牛酶、纤维素酶 R-10）反应缓冲液.....	18
磷酸缓冲液（pH 7.0, 0.1 mol/L）	18
酵母破碎缓冲液.....	18
PMSF (100 mmol/L).....	19
酚/氯仿（Tris 饱和酚配制）	19
LiAc (1.0 mol/L).....	19
SD 培养基	19
X-gal 染色	20
Z 缓冲液	20
X-gal 储藏液	20
Z 缓冲液/X-gal 溶液.....	20
Dropout 储液（10×）	21
真菌操作	22
PDA 培养基（霉菌）	22
产酶培养基.....	22
马铃薯培养基（白叶枯菌）	23
燕麦培养基（稻瘟菌）	23
DNS 溶液.....	23
水稻转基因操作	24
1 水稻组织培养主要试剂.....	24
N ₆ max 母液 (20×)	24
N ₆ min 母液 (1000×).....	24
Fe ₂ EDTA 贮存液 (100×).....	24
Vitamin 贮存液 (1000×)	25

MSmax 母液 (20×).....	25
MSmin 母液 (1000×).....	25
2,4-D 贮存液 (1 mg/mL).....	26
6-BA 贮存液 (1 mg/mL).....	26
NAA 贮存液 (1 mg/mL).....	26
IAA 贮存液 (1 mg/mL).....	26
KT 贮存液 (1 mg/mL).....	26
AS 贮存液 (0.002 mol/L).....	27
KOH 贮存液 (1 mol/L).....	27
CN 贮存液 (50 mg/mL).....	27
HN 贮存液 (50 mg/mL).....	27
Cef 贮存液 (100 mg/mL).....	27
HgCl ₂ 贮存液 (10 mg/mL, 10×).....	27
2 水稻组织培养培养基.....	28
诱导培养基.....	28
继代培养基.....	28
预培养.....	29
共培养.....	29
悬浮培养.....	30
选择培养.....	30
预分化.....	31
分化培养基.....	31
生根培养基.....	32
拟南芥转基因操作.....	33
次氯酸钠消毒水.....	33
MS 培养基 (固体).....	33
MS 培养基 (液体).....	33
1/2 MS 培养基 (固体).....	34
1/2 MS 培养基 (液体).....	34
洋葱瞬时转化操作.....	35

CaCl ₂ (2.5 mol/L).....	35
亚精胺 (0.1 mol/L)	35
常用抗生素	36
分子标记	37
6% 丙烯酰胺胶液	37
TBE (5×).....	37
EDTA (0.5 mol/L)	38
10% AP	38
硅化剂.....	38
染色液.....	38
显影液.....	39
Loading Buffer.....	39
蛋白常用试剂	40
1 蛋白提取试剂.....	40
1.1 水稻细胞总蛋白提取试剂.....	40
MOPS/NaOH buffer (pH 7.5, 50 mmol/L).....	40
1.2 纤维素酶蛋白提取试剂.....	40
NaAc Buffer (pH 5.5, 0.1 mol/L)	40
1.3 β-葡萄糖苷酶提取试剂	40
柠檬酸三钠缓冲液 (pH 5.0)	40
1.4 水稻细胞核蛋白提取试剂.....	41
缓冲液 A.....	41
低盐缓冲液.....	41
高盐缓冲液.....	41
透析液/Dialysis Buffer	42
2 蛋白化学分析试剂.....	42
PBS (pH 7.4).....	42
Tris HCl (pH 8.0, 50 mmol/L)	42
NaCl (pH 8.0, 0.5 mol/L).....	42
醋酸钠 (100 mmol/L)	42
还原型谷胱甘肽 (10 mmol/L)	43
Glycine-HCl (pH 1.9, 50 mmol/L)	43

Brandford 显色液	43
SDS Loading buffer (5×)	43
30% 丙烯酰胺	43
10% AP	44
10% SDS	44
Tris (pH 8.8, 1.5 mol/L)	44
Tris (pH 6.8, 1.5 mol/L)	44
Tris-Gly (5×)	45
染色液	45
脱色液	45
转膜缓冲液	45
TBS (10×)	45
TTBS 缓冲液	46
封闭液	46
DAB/NiCl 显色液	46
ECL 显色液	46
一抗	46
二抗	46
3 水稻染色质免疫共沉淀 (ChIP) 试剂	47
Extraction Buffer 1	47
Extraction Buffer 2	47
Extraction Buffer 3	48
Nuclear Lysis Buffer	48
ChIP Dilution Buffer	49
Low Salt Wash Buffer	49
High Salt Wash Buffer	49
LiCl Wash Buffer	50
TE Buffer	50
Elution Buffer	50

无 DNA 酶的胰 RNA 酶(RNase A)	50
酚/氯仿 (Tris 饱和酚配制)	50
纤维素合成	51
Mops 溶液(50 mmol/L).....	51
MgCl ₂ (100 mmol/L)	51
CaCl ₂ (100 mmol/L)	51
MnCl ₂ (100 mmol/L)	51
Cellobiose (100 mmol/L).....	51
UDP-Glc (100 mmol/L).....	51
UDP-Ara (100 mmol/L).....	52
UDP-Xyl (100 mmol/L).....	52
蛋白酶抑制剂.....	52
去污剂.....	52
组织染色观察	53
1 纤维素染色.....	53
2 木质素染色.....	53
3 胍胍质染色.....	53
4 细胞壁多糖免疫荧光标记.....	54
5 量子点免疫荧光标记.....	55
6 水稻原生质体分离试剂.....	56
Digestion Solution 酶解液	57
W5 Solution	57
细胞壁成分测定	58
1 纤维素、半纤维素和果胶提取.....	58
磷酸缓冲液 (pH 7.0, 0.5 mol/L)	58
氯仿-甲醇 (1:1)	58
DMSO-H ₂ O.....	58
0.5% 草酸铵	58
KOH (4 mol/L, 含 1 mg/mL NaHB ₄)	58
67% H ₂ SO ₄ -72% H ₂ SO ₄	59

2 晶体纤维素提取.....	59
乙酸-硝酸-水 (8:1:2).....	59
3 木质素提取.....	59
苯-乙醇.....	59
2.88% H ₂ SO ₄ (w/w).....	59
4 粗纤维素提取.....	59
8% NaClO ₂ (w/v).....	59
5 己糖和戊糖测定.....	60
H ₂ SO ₄ -蒽酮.....	60
苔黑酚溶液.....	60
FeCl ₃ -HCl 溶液.....	60
6 果胶质和糖醛酸测定.....	60
Na ₂ B ₄ O ₇ -H ₂ SO ₄	60
间羟基联苯溶液.....	60
7 键连接分析.....	61
NaOH (1 mol/L, 含 1 mg/mL NaHSO ₃).....	61
NaOH (4 mol/L, 含 1mg/mL NaHSO ₃).....	61
8 硅烷化分析.....	61
甲氧基氨基盐酸盐 (20 mg/mL).....	61
9 2-AB 衍生化分析.....	61
10 其他试剂.....	62
2% NaHCO ₃ (w/v).....	62
EDTA (1 mmol/L).....	62
耐热 α-淀粉酶.....	62
半纤维素单糖测定.....	63
IS.....	63
10% NaHB ₄	63
木质素单体测定.....	64
苯-乙醇.....	64
NaOH (2 mol/L).....	64

乙基香兰素（萃取用）内标（4mg/mL）	64
二氯甲烷-乙酸乙酯（1:1）	64
HCl (6 mol/L)	64
HPLC 流动相	65
木质素单体标曲-HPLC	65
纤维素 DP 测定	66
1 mol/L 铜乙二胺溶液	66
细胞壁降解转化	67
醋酸缓冲液 (pH 4.8, 0.2 mol/L)	67
2% NaOH (w/v)	67
1% H ₂ SO ₄ (v/v)	67
10% CaO (w/w)	67
3.2 g/L 纤维素复合酶液	67
1% Tween (v/v)	68
0.5% PEG4000 (w/v)	68
糖醇转化	69
磷酸缓冲液 (pH 4.8)	69
5% K ₂ Cr ₂ O ₇	69
细胞壁孔隙度	70
Simons' Stains 缓冲液	70
Direct Yellow 11 (DY solution, 10 mg/mL)	70
Direct Blue 15 (DB solution, 10 mg/mL)	70
磷酸缓冲溶液 (pH 6.8)	70
10 mg/mL 刚果红溶液	70

注：[]为分子量。

DNA 提取

CTAB (1.5×)

CTAB 十六烷基三甲基溴化铵 [364.45].....15 g
1 mol/L Tris·HCl (pH 8.0).....75 mL
0.5 mol/L EDTA (pH 8.0).....30 mL
NaCl [58.5].....61.4 g
单蒸水定容至1L，室温保存。

EDTA 贮存液 (pH 8.0, 0.5 mol/L)

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。

Tris·HCl 贮存液 (pH 8.0, 1 mol/L)

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 (24:1)

配制100 mL 溶液，氯仿96 mL，异戊醇4 mL，体积比v/v为24 :1。

75% 乙醇溶液

无水乙醇：ddH₂O(v/v) = 3:1，终浓度为75%。

10% SDS (w/v)

SDS [288.38].....10 g

用 100 mL 单蒸水溶解。

TE Buffer (1×)

1mol/L Tris-HCl Buffer, pH 8.0.....5 mL

0.5 mol/L EDTA, pH 8.0.....1 mL

加入约 400mL ddH₂O 均匀混合；将溶液定容到 500mL，
高温高压灭菌后，室温保存。

蛋白酶 K (20 mg/mL)

将 200mg 的蛋白酶 K 加入到 9.5 mL 水中，轻轻摇动，直至蛋白酶 K 完全溶解。不要涡旋混合。加水定容到 10 mL，然后分装成小份贮存于-20℃。

NaAc (5mol/L)

CH₃COONa [82.08]41 g

加水定容到 100 mL。

RNA 提取

1 水稻、拟南芥 RNA 提取

TRIzol 法提取 RNA

RNA提取试剂:

TRIzol (Transgene公司购买)

其他试剂:

氯仿

异丙醇

75% 乙醇

DEPC · H₂O

3 mol/L NaAc

DNase I

DNase I buffer

NaAc (pH 5.2, 3 mol/L)

CH₃COONa [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。

2 棉花 RNA 提取 (CTAB-PVP 法)

CTAB 法抽提 RNA

RNA 提取缓冲液:

2% CTAB (w/v)

2% PVP-40 (w/v)

100 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)

0.5 g/L 亚精胺

2.0 mol/L NaCl

2% 巯基乙醇 (w/v, 使用前加入)

其它试剂:

4 mol/L 硫氰酸胍

42 mmol/L 柠檬酸钠

0.83% 十二烷基肌氨酸钠

1%-2% (w/v) PVP40

1% (v/v) β -巯基乙醇 (现配现用)

苯酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1)

SSTE 法

1 mol/L NaCl

0.5% SDS (w/v)

10 mmol/L Tris-HCl (pH8.0)

1.0 mmol/L EDTA

热硼酸法

RNA 提取缓冲液:

200 mmol/L 十水四硼酸钠 [381.37].....	7.6274 g
30 mmol/L EGTA [380.35].....	1.1411 g
1% (w/v) SDS [288.38].....	1 g
1% (w/v) 脱氧胆酸钠 [414.55]	1 g
2% (w/v) PVP-40.....	2 g

用 DEPC ddH₂O 定容至 100 ml。

其它试剂:

- 1 mol/L DTT
- 20 mg/ml Protein K
- 1.8 mol/L KCl
- 8 mol/L LiCl
- 2 mol/L KAc (pH5.5)

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 mol/L EDTA (pH 8.0)2 mL

1 mol/L 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°C 保存。

CaCl₂ 溶液 (0.1 mol/L)

CaCl₂·2H₂O [147]1.47 g

ddH₂O 定容至 100 mL。

➤ **注意事项：** 灭菌后 4°C 预冷，新鲜配制使用。

MgCl₂ 溶液 (2 mol/L)

MgCl₂ [95]19 g

单蒸水定容至 100 mL，灭菌 20 min。

30% 甘油 (丙三醇)

甘油[92.09]30mL

单蒸水定容至 100 mL，高温高压灭菌 20 min 后使用。

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 mmol/L KCl 溶液
KCl [74.5]1.86 g
单蒸水定容至 100 mL。
- 3) 5 mol/L 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 mol/L MgCl₂。

SOC 培养基

- 1) 1 mol/L 葡萄糖溶液
葡萄糖 Glucose·H₂O [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 培养基中加入灭菌后 1 mol/L 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。

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/常用 Glucose)。

YPD 培养基（固体）

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/常用 Glucose)。

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/常用 Glucose)。

YPDS 培养基（固体）

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/常用 Glucose)，

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 mol/L 磷酸缓冲液定容至 100 mL。

磷酸缓冲液（pH 7.0, 0.1 mol/L）

1) Na_2HPO_4 577 mL 0.1 mol/L

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

溶于单蒸水定容至 1L

2) NaH_2PO_4 423 mL 0.1 mol/L

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [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

100 mmol/L PMSF10 mL (现用现加)

加入0.1 mol/L磷酸缓冲液定容至1 L。

PMSF (100 mmol/L)

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。

LiAc (1.0 mol/L)

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。

SD 培养基

无氨基酸的酵母氮源.....6.7 g

葡萄糖.....20 g

10×Dropout 储液.....100 mL

2% (W/V) 琼脂粉.....20 g

加入 800 mL 蒸馏水, 调 pH 至 5.8, 定容至 1 L。

X-gal 染色

Z 缓冲液

Na₂HPO₄ · 7H₂O16.1 g/L

NaH₂PO₄ · H₂O5.50 g/L

KCl0.75 g/L

MgSO₄ · 7H₂O0.246 g/L

调节pH 7.0，高温高压灭菌。

X-gal 储藏液

Dissolve 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside (X-GAL; Cat No.8060-1), 浓度为20 mg/mL。

Z 缓冲液/X-gal 溶液

Z buffer.....100 mL

β-mercaptoethanol.....0.27 mL

X-gal 储藏液.....1.67 mL

Dropout 储液 (10×)

L-腺嘌呤	200 mg/L
L-精氨酸	200 mg/L
L-组氨酸	200 mg/L
L-异亮氨酸	300 mg/L
L-亮氨酸	1000 mg/L
L-赖氨酸	300 mg/L
L-甲硫氨酸	200 mg/L
L-苯丙氨酸	500 mg/L
L-苏氨酸	2000 mg/L
L-色氨酸	200 mg/L
L-酪氨酸	300 mg/L
L-尿嘧啶	200 mg/L
L-缬氨酸	1500 mg/L

按照以上配方配制储液，缺陷型的不需要加该种氨基酸，其余不变。

真菌操作

PDA 培养基（霉菌）

去皮土豆.....	200 g
葡萄糖 [180.16]	20 g
琼脂粉.....	20 g
pH 自然（不用调 pH）	

将土豆去皮切碎倒入煮锅中，加蒸馏水 1 L，煮沸半小时（需不停搅拌，防止粘锅焦糊）。待土豆软烂后，用四层纱布过滤，取滤液，再在滤液中加入葡萄糖和琼脂粉，加蒸馏水定容至 1 L。121°C，20 min 灭菌备用。

产酶培养基

KH ₂ PO ₄ [136.09].....	2 g
(NH ₄) ₂ SO ₄ [132.14].....	21 g
Tryptone.....	1 g
尿素 [60.06].....	0.3 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O [147.02].....	0.4 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O [246.47].....	0.3 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O [278.02].....	75 mg
MnSO ₄ ·H ₂ O [169.01].....	2 mg
ZnSO ₄ [161.45].....	2 mg
CoCl ₂ [98.92].....	3 mg
蒸馏水定容至 1 L，调节 pH 至 5.0。	

马铃薯培养基（白叶枯菌）

马铃薯.....	300 g
（去皮煮熟后4层纱布过滤取汁液）	
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O [358.14].....	2 g
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O [236.15].....	0.5 g
胰蛋白胨.....	5 g
蔗糖.....	15 g
琼脂.....	20 g

加蒸馏水至1 L，调pH至 6.8-7.0，分装至生根管中，封口后灭菌，趁热将生根管倾斜待培养基凝固，使培养基在生根管中形成斜面。

燕麦培养基（稻瘟菌）

燕麦片.....	30 g
琼胶.....	17-20 g
单蒸水.....	1000 mL

燕麦片加水 1000 mL，在沸水浴上加热 1 h，纱布过滤后加水补足 1000 mL，加琼胶熔化后分装灭菌。琼胶用量增加到 30 g，培养基不容易干燥，可用于较长时期的培养，对促进孢子的产生是有利的。

DNS 溶液

3, 5-二硝基甲苯.....	6.3 g
NaOH.....	21 g
酒石酸钾钠 [282.23]	185 g
苯酚 [94.11].....	5 g
无水亚硫酸钠 [126.04].....	5 g

185 g 酒石酸钾钠溶液 500mL 热水中，完全溶解后，连续加入 21 g NaOH，6.3 g 3, 5-二硝基甲苯（持续加热搅拌，可适当补水），而后加入无水亚硫酸钠 5 g，苯酚 5 g，加单蒸水定容至 1 L。贮存于棕色瓶中，避光，室温放置 7 d 后可使用。

水稻转基因操作

1 水稻组织培养主要试剂

N₆max 母液 (20×)

硝酸钾/KNO₃ [101.10]56.6 g

磷酸二氢钾/KH₂PO₄ [136.09]8.00 g

硫酸铵/(NH₄)₂SO₄ [132.14]9.26 g

硫酸镁/MgSO₄·7H₂O [246.47]3.70 g

无水氯化钙/CaCl₂ [110.98]3.32 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 (1000×)

碘化钾/KI [166].....0.80 g

硼酸/H₃BO₃ [61.83].....1.60 g

硫酸锰/MnSO₄·H₂O [169.02].....4.40 g

硫酸锌/ZnSO₄·7H₂O [287.56].....1.50 g

室温下单蒸水定容至1 L，4°C保存备用。

Fe₂EDTA 贮存液 (100×)

一个三角瓶中加入300 mL 蒸馏水和FeSO₄·7H₂O [278.02] 2.78 g;

另一三角瓶中加入300 mL 蒸馏水和Na₂EDTA·2H₂O [372.24] 3.73 g;

并加热至70°C，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 (1000×)

烟酸/Nicotinic acid [123.11]	0.50 g
维生素B1/Thiamine HCl (VB ₁) [337.27]	1.00g
维生素B6/Pyridoxine HCl (VB ₆) [205.64]	0.50 g
甘氨酸/Glycine [75.07]	2.00 g

双蒸水定容至1 L，避光4°C保存备用。

- 备注：肌醇/Inositol [180.16]按质量体积比（w/v=1:10）配制成10%浓度，在配制培养基时单独添加，避免肌醇浓度太高引起Vitamin贮存液长菌。

MSmax 母液 (20×)

硝酸铵/NH ₄ NO ₃ [80.04]	33.00 g
硝酸钾/KNO ₃ [101.01]	38.00 g
磷酸二氢钾/KH ₂ PO ₄ [136.09]	3.40 g
硫酸镁/Mg ₂ SO ₄ ·7H ₂ O [246.47]	7.40 g
无水氯化钙/CaCl ₂ [110.98]	6.66 g

室温下溶解，单蒸水定容至1 L，4°C保存备用。

MSmin 母液 (1000×)

碘化钾/KI [166]	0.83 g
硼酸/H ₃ BO ₃ [61.83]	6.20 g
硫酸锰/MnSO ₄ ·H ₂ O [169.02]	6.52 g
钼酸钠/Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O [241.95].....	0.25 g
硫酸铜/CuSO ₄ ·5H ₂ O [249.68].....	0.025 g
氯化钴/CoCl ₂ ·6H ₂ O [206.92]	0.025 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 mol/L KOH 70 °C水浴锅中溶解10 min,

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 mol/L 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 mol/L 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 mol/L 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 mol/L 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 mol/L)

乙酰丁香酮/AS [196.20]0.392 g
二甲基亚砜/DMSO [78.13].....10 mL
分装至1.5 mL 离心管内，4°C保存备用。

KOH 贮存液 (1 mol/L)

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/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/HNromycin B/C₂₀H₃₇N₃O₁₃ [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/C₁₆H₁₆N₅NaO₈S₂ [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 贮存液 (10 mg/mL, 10×)

HgCl₂10 g
溶于 1 L 双蒸水中(10 g/L)，室温避光保存。
使用时将母液稀释成 1 倍使用。

2 水稻组织培养培养基

诱导培养基

成分	100 mL	200 mL	300 mL	400 mL	500 mL	600 mL	700 mL	800 mL	900 mL	1000 mL
N6max (20X) (mL)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
N6min (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
Casein (g)	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30
L-proline (g)	0.2878	0.5756	0.8634	1.1512	1.439	1.7268	2.0146	2.3024	2.5902	2.878
Sucrose (g)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Phyta (g)	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00	2.40	2.80	3.20	3.60	4.00
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

继代培养基

成分	100 mL	200 mL	300 mL	400 mL	500 mL	600 mL	700 mL	800 mL	900 mL	1000 mL
N6max (20X) (mL)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
N6min (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2.00
Casein (g)	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.18	0.21	0.24	0.27	0.30
L-proline (g)	0.2878	0.5756	0.8634	1.1512	1.439	1.7268	2.0146	2.3024	2.5902	2.878
Sucrose (g)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8.00
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

预培养

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
N6min (100X) (mL)	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.30	0.60	0.90	1.20	1.50	1.80	2.10	2.40	2.70	3.00
Casein (g)	0.06	0.12	0.18	0.24	0.30	0.36	0.42	0.48	0.54	0.60
Sucrose (g)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Glucose (g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8.00
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

共培养

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
N6min (100X) (mL)	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.30	0.60	0.90	1.20	1.50	1.80	2.10	2.40	2.70	3.00
Casein (g)	0.08	0.16	0.24	0.32	0.40	0.48	0.56	0.64	0.72	0.80
Sucrose (g)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Glucose (g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8.00
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

悬浮培养

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
N6min (100X) (mL)	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2.00
Casein (g)	0.08	0.16	0.24	0.32	0.40	0.48	0.56	0.64	0.72	0.80
Sucrose (g)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Glucose (g)	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	3.50	4.00	4.50	5.00
pH	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4

选择培养

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
N6min (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
2,4-D (1mg/ml) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.50
Casein (g)	0.08	0.16	0.24	0.32	0.40	0.48	0.56	0.64	0.72	0.80
Sucrose (g)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8
pH	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
HN (50 mg/mL) (μL)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
一选 CN (200 mg/mL) (μL)	200	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
二选 CN (200 mg/mL) (μL)	125	250	375	500	625	750	875	1000	1125	1250

➤ **备注：**抗生素 HN 和 CN 在培养基灭菌后，待培养基温度降至 65°C 左右，倒平板时添加，以免温度太高抗生素失效。

预分化

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
N6min (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.5
6-BA (1mg/mL) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2
KT (1mg/mL) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2
NAA (1mg/mL) (uL)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
IAA (1mg/mL) (uL)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
Casein (g)	0.06	0.12	0.18	0.24	0.30	0.36	0.42	0.48	0.54	0.6
Sucrose (g)	3.00	6.00	9.00	12.00	15.00	18.00	21.00	24.00	27.00	30
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8
pH	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9

分化培养基

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
N6max (20X) (mL)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
N6min (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fe ²⁺ EDTA (100X) (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vitamine (400X) (mL)	0.25	0.50	0.75	1.00	1.25	1.50	1.75	2.00	2.25	2.5
6-BA(1mg/mL) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2
KT (1mg/mL) (mL)	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00	1.20	1.40	1.60	1.80	2
NAA (1mg/mL) (uL)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
IAA (1mg/mL) (uL)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
Casein (g)	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1
Sucrose (g)	3.00	6.00	9.00	12.00	15.00	18.00	21.00	24.00	27.00	30
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8
pH	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

生根培养基

成分	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL
MSmax (20X) (mL)	2.5	5	7.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25
MSmin (100X) (mL)	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	3.50	4.00	4.50	5
Fe ²⁺ +EDTA (100X) (mL)	0.50	1.00	1.50	2.00	2.50	3.00	3.50	4.00	4.50	5
Vitamine (400X) (mL)	0.13	0.25	0.38	0.50	0.63	0.75	0.88	1.00	1.13	1.25
Sucrose (g)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Agar (g)	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00	4.80	5.60	6.40	7.20	8
pH	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

拟南芥转基因操作

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 \times MSmax.....50 mL
100 \times EDTA-Fe.....10 mL
1000 \times MSmin.....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 \times MSmax.....50 mL
100 \times EDTA-Fe.....10 mL
1000 \times MSmin.....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×MSmax.....25 mL
100×EDTA-Fe.....5 mL
1000×MSmin.....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×MSmax.....25 mL
100×EDTA-Fe.....5 mL
1000×MSmin.....500 μL
蔗糖.....10 g
单蒸水定容至 1 L,
KOH 调 pH 至 5.8。

洋葱瞬时转化操作

CaCl₂ (2.5 mol/L)

无水氯化钙/CaCl₂ [111].....2.7750 g

亚精胺 (0.1 mol/L)

亚精胺/Spermidine [145.2]0.1452 g

用 10 mL ddH₂O 溶解，分装后存放于-20°C。

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	无菌 ddH ₂ O	4°C	
Kan	50 mg/mL	50 ug/mL	无菌 ddH ₂ O	4°C	
Spec	100 mg/mL	100 ug/mL	甲醇	4°C	
Rif	50 mg/mL	50 ug/mL	DMSO	4°C	避光保存

- **备注:** 若一周内使用,可存放于4°C冰箱;若一周以上不使用,需放置于-20°C冰箱避光保存。

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。

TBE (5×)

Tris-base [111]	54 g
H ₃ BO ₃ [61.83]	27.5 g
0.5 mol/L 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。

EDTA (0.5 mol/L)

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 mol/L EDTA (pH 8.0)1 mL
溴酚蓝 [670.02].....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 mol/L EDTA，用去离子甲酰胺定容至 50 mL；在通风橱中进行。

蛋白常用试剂

1 蛋白提取试剂

1.1 水稻细胞总蛋白提取试剂

MOPS/NaOH buffer (pH 7.5, 50 mmol/L)

Mops [209.26].....2.616 g
蔗糖 [342.29].....21.3940 g
用 NaOH 调节 pH 到 7.5 后定容到 250 mL。

1.2 纤维素酶蛋白提取试剂

NaAc Buffer (pH 5.5, 0.1 mol/L)

NaAc [82]8.2 g
用醋酸调节 pH 到 5.5 后定容到 100 mL。

1.3 β -葡萄糖苷酶提取试剂

柠檬酸三钠缓冲液 (pH 5.0)

0.1mol/L 柠檬酸

$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ [210.14]21.01 g
溶于 1 L 单蒸水中。

0.1mol/L 柠檬酸钠

$Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ [294.12]29.40 g
溶于 1 L 单蒸水中。

将 0.1mol/L 柠檬酸: 0.1mol/L 柠檬酸钠(v/v) = 49:51 体积比混合,
即可得 pH 5.0 柠檬酸三钠缓冲液。

1.4 水稻细胞核蛋白提取试剂

缓冲液 A

10 mM Hepes (pH7.8)

10 mmol/L KCl

10 mmol/L MgCl₂

5 mmol/L EDTA

250 mmol/L Sucrose

0.5% Triton-X-100

用前添加: 1 mmol/L DTT; 0.2 mmol/L PMSF, 冰上预冷。

低盐缓冲液

20 mmol/L Hepes (pH7.8)

20 mmol/L KCl

1.5 mmol/L MgCl₂

0.2 mmol/L EDTA

25% Glycerol

用前添加: 0.5 mmol/L DTT; 0.2 mmol/L PMSF, 冰上预冷。

高盐缓冲液

20 mmol/L Hepes (pH7.8)

1.6 M/L KCl

1.5 mmol/L MgCl₂

0.2 mmol/L EDTA

25% Glycerol

用前添加: 0.5 mmol/L DTT; 0.2 mmol/L PMSF, 冰上预冷。

透析液/Dialysis Buffer

20 mmol/L Hepes (pH7.8)

100 mmol/L KCl

0.2 mmol/L EDTA

20% Glycerol

用前添加: 0.5 mmol/L DTT; 0.2 mmol/L PMSF , 冰上预冷。

2 蛋白化学分析试剂

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

用单蒸水定容至 5 L。

Tris HCl (pH 8.0, 50 mmol/L)

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。

NaCl (pH 8.0, 0.5 mol/L)

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。

醋酸钠 (100 mmol/L)

醋酸钠 [82.03]8.2 g

溶于 1 L 单蒸水中。

还原型谷胱甘肽 (10 mmol/L)

还原性谷胱甘肽 [307.32].....0.1537 g
溶于 50 mL 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)中。

Glycine-HCl (pH 1.9, 50 mmol/L)

Glycine [75]0.375 g
用盐酸调节 pH 至 1.9, 定容至 100 mL。

Brandford 显色液

G 250 [854.02].....0.1 g
95% 乙醇.....50 mL
85% 磷酸.....100 mL
用单蒸水定容至 1 L。

SDS Loading buffer (5×)

1 mol/L Tris-HCl (pH 6.8).....12.5 mL
SDS [288.38]5 g
溴酚蓝 [607.02]0.25 g
甘油 [92.09].....25 mL
H₂O [18].....12.5 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 μL巯基乙醇。

30% 丙烯酰胺

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°C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。

Tris (pH 8.8, 1.5 mol/L)

Tris [121.14]18.15 g

溶于80 mL 去离子水中, 调pH至8.8后, 定容至100 mL。

Tris (pH 6.8, 1.5 mol/L)

Tris [121.14]18.15 g

溶于80 mL 去离子水中, 调pH至6.8后,

定容至100 mL。

Tris-Gly (5×)

Tris [121.14]15.1 g
 甘氨酸 [75.07]94 g
 10% SDS [288.38].....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 [60.05].....100 mL
 异丙醇 [60.06].....250 mL
 单蒸水定容至 1 L。

脱色液

冰乙酸 [60.05].....100 mL
 乙醇 [46.07].....50 mL
 单蒸水定容至 1 L。

转膜缓冲液

Tris [121.14]3.0 g
 甘氨酸 [75.07]14.4 g
 SDS [3.7g/L]10 mL
 甲醇 [32.04].....200 mL
 单蒸水定容至 1 L。

TBS (10×)

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 μL

封闭液

5 g 脱脂奶粉溶于100 mL TTBS中，可放置摇床室温下摇动3 h以上。

➤ 注意事项：

封闭液易长菌，应根据实际需求进行配制，以免造成浪费。

DAB/NiCl 显色液

100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)	10 mL
DAB储存液 [40].....	200 μL
NiCl溶液 [80].....	50 μL
30% H ₂ O ₂	30 μL

ECL 显色液

A液和B液按1: 1等体积加入，配置成混合液在冰上保存，现用现配。

PVDF膜面积为S cm²，A+B总体积V为 $\frac{1}{10}$ S mL，即S:V = 10:1。

一抗

一般按1: 1000稀释，即在15 mL TTBS中加入15 μl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 μl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。

3 水稻染色质免疫共沉淀 (ChIP) 试剂

Extraction Buffer 1

0.4 mol/L Sucrose.....	20 mL of 2 mol/L
10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0.....	1 mL of 1 mol/L
10 mmol/L MgCl ₂	1 mL of 1 mol/L
5 mmol/L β-ME.....	35 μL
1 mmol/L PMSF.....	1 mL of 0.1 mol/L
1 μmol/L Leupeptin.....	100 μL of 1 mmol/L
1 μmol/L Pepstatin.....	100 μL of 1 mmol/L
ddH ₂ O	77.765 mL

用单蒸水定容至 100 mL。

Extraction Buffer 2

0.25 mol/L Sucrose.....	625 μL of 2 mol/L
10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0.....	50 μL of 1 mol/L
10 mmol/L MgCl ₂	50 μL of 1 mol/L
1% Triton X-100.....	250 μL of 20%
5 mmol/L β-ME.....	1.75 μL
1 mmol/L PMSF.....	50 μL of 0.1 mol/L
1 μmol/L Leupeptin.....	5 μL of 1 mmol/L
1 μmol/L Pepstatin.....	5 μL of 1 mmol/L
ddH ₂ O.....	4.9633 mL

总体积为 5 mL。

Extraction Buffer 3

1.7 mol/L Sucrose.....	4.25 mL of 2 mol/L
10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0.....	50 μ L of 1 mol/L
2 mmol/L MgCl ₂	10 μ L of 1 mol/L
0.15% Triton X-100.....	37.5 μ L of 20%
5 mmol/L β -ME.....	1.75 μ L
1 mmol/L PMSF.....	50 μ L of 0.1 mol/L
1 μ mol/L Leupeptin	5 μ L of 1 mmol/L
1 μ mol/L Pepstatin.....	5 μ L of 1 mmol/L
ddH ₂ O.....	0.5918 mL

总体积为 5 mL。

Nuclear Lysis Buffer

50 mmol/L Tris-HCl pH8.0	250 μ L of 1 mol/L
10 mmol/L EDTA.....	100 μ L of 0.5 mol/L
1% SDS.....	500 μ L of 10%
1 mmol/L PMSF.....	50 μ L of 0.1 mol/L
1 μ mol/L Leupeptin	5 μ L of 1 mmol/L
1 μ mol/L Pepstatin.....	5 μ L of 1 mmol/L
ddH ₂ O.....	4.09 mL

总体积为 5 mL。

ChIP Dilution Buffer

1% Triton X-100 2 mL of 20%
 1.2 mmol/L EDTA.....96 μ L of 0.5 mol/L
 16.7 mmol/L Tris-HCl, pH8.0.....668 μ L of 1 mol/L
 167 mmol/L NaCl1336 μ L of 5 mol/L
 ddH₂O35.9 mL
 总体积为 40 mL。

Low Salt Wash Buffer

150 mmol/L NaCl.....300 μ L of 5 mol/L
 0.1% SDS.....100 μ L of 10%
 1% Triton X-100.....500 μ L of 20%
 2 mmol/L EDTA40 μ L of 0.5 mol/L
 20 mmol/L Tris-HCl, pH8.1.....200 μ L of 1 mol/L
 ddH₂O.....8.86 mL
 总体积为 10 mL。

High Salt Wash Buffer

500 mmol/L NaCl.....1 mL of 5 mol/L
 0.1% SDS100 μ L of 10%
 1% Triton X-100.....500 μ L of 20%
 2 mmol/L EDTA40 μ L of 0.5 mol/L
 20 mmol/L Tris-HCl, pH8.1.....200 μ L of 1 mol/L
 ddH₂O.....8.16 mL
 总体积为 10 mL。

LiCl Wash Buffer

0.25 mol/L LiCl500 μ L of 5 mol/L
 1% IGEPAL-CA630100 μ L of 100%
 1% Sodium Deoxycholate1 mL of 10%
 1 mmol/L EDTA20 μ L of 0.5 mol/L
 10 mmol/L Tris-HCl, pH8.1100 μ L of 1 mol/L
 ddH₂O8.28 mL
 总体积为 10 mL。

TE Buffer

10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0.....100 μ L of 1 mol/L
 1 mmol/L EDTA.....20 μ L of 0.5 mol/L
 ddH₂O9.88 mL
 总体积为 10 mL。

Elution Buffer

10% SDS1 mL of 10%
 Sodium Bicarbonate.....0.0840 g
 灭菌 ddH₂O to 10 mL
 总体积为 10 mL。

无 DNA 酶的胰 RNA 酶(RNase A)

胰 RNA 酶(RNase A)溶于灭菌双蒸水，配成 10 mg/mL 的浓度，于 100 °C 加热 15 min, 缓慢冷却至室温，分装成小份，保存于-20 °C。使用浓度为 10 μ g/mL。

酚/氯仿 (Tris 饱和酚配制)

等体积 Tris 饱和酚和氯仿混和，再加 20 mL 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。

纤维素合成

Mops 溶液(50 mmol/L)

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,

定容至 1 L。

MgCl₂ (100 mmol/L)

MgCl₂ · 6H₂O [203.31].....0.203 g

溶解于 10 mL ddH₂O。

CaCl₂ (100 mmol/L)

CaCl₂ [111].....0.111 g

溶解于 10 mL ddH₂O。

MnCl₂ (100 mmol/L)

MnCl₂ · 4H₂O [197.91].....0.111 g

溶解于 10 mL ddH₂O。

Cellobiose (100 mmol/L)

Cellobiose [342.29]100 mg

溶解于 2.92 mL ddH₂O。

UDP-Glc (100 mmol/L)

UDP-Glc [610.27]100 mg

溶解于 1.64 mL ddH₂O。

UDP-Ara (100 mmol/L)

UDP-Ara.....5 mg

溶解于 861.7 μ L ddH₂O。

UDP-Xyl (100 mmol/L)

UDP-Xyl.....10mg

溶解于 1.72 mL ddH₂O。

蛋白酶抑制剂

所有蛋白酶抑制剂来源于Sigma公司

1) 0.1 mol/L PMSF

取0.1742 g PMSF，溶于10 mL异丙醇，容易析出结晶状，注意反复震荡促其溶解。使用时稀释10倍，工作浓度为0.01 mol/L。

2) 2.5 mmol/L PepstainA

取25 mg PepstainA溶于14.58 mL甲醇，注意称取量很小时称量纸不归零。

3) 5 mmol/L Leupeptin

取25 mg Leupeptin溶于10.8 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。

组织染色观察

1 纤维素染色

- 1) 0.1 mol/L 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。

2 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。

3 胍胍质染色

- 1) 0.07 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 9.0)

Na_2HPO_42.507 g

溶于 100 mL 单蒸水,

用 4 mol/L NaOH 调 pH 至 9.0

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

Aniline Blue.....100 mg

溶于 0.07 mol/L 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。

4 细胞壁多糖免疫荧光标记

1) 一抗:

CCRC系列抗体来源于小鼠 (mouse), 使用时稀释5倍;

JIM, MAC和LM系列抗体来源于大鼠 (rat), 使用时稀释10倍。

细胞壁多糖单抗的信息来源:

WallMabDB网站 (<http://www.wallmabdb.net>)

供应商: CarboSource (<http://www.carbosource.net>)

PlantProbes (<http://www.plantprobes.net>)

BioSupplies (<http://www.biosupplies.com.au/>)

2) 二抗:

CCRC系列: Alexa Fluor 488 anti-mouse IgG (H + L), Invitrogen, A11001。

JIM, MAC和LM系列: Alexa Fluor 488 anti-rat IgG (H + L), Invitrogen, A-11006。

二抗稀释倍数200倍, 用1×PBS稀释。

3) PBS (10×)

NaCl [58.44]72 g

Na₂HPO₄·12H₂O [358.14]37.3 g

KH₂PO₄ [136.09]4.3 g

加蒸馏水至1000 ml, 充分混匀贮存。

使用时用蒸馏水10倍稀释, 调整pH值至7.3—7.4。

4) 3% 脱脂奶粉封闭液 (w/v)

脱脂奶粉.....3 g

溶解于100 mL 1×PBS, 室温摇匀。

➤ 注意: 脱脂奶粉易成团, 一定要全部溶解均匀后使用。

5) 抗荧光衰退封片剂

AF1, 17970, Electron Microscopy Sciences

5 量子点免疫荧光标记

1) PBS (10×, pH 7.4)

NaCl [58.44]72 g

Na₂HPO₄·12H₂O [358.14]37.3 g

KH₂PO₄ [136.09]4.3 g

加蒸馏水至1000 ml, 充分混匀贮存。

使用时用蒸馏水10倍稀释, 调整pH值至7.3—7.4。

2) 柠檬酸抗原修复液

抗原修复使用柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液:

称取柠檬酸10.5 g, 溶于500 ml蒸馏水;

称取Na₂HPO₄·12H₂O 57.3g, 溶于800 ml蒸馏水。

分别量取358 ml柠檬酸溶液和642 ml Na₂HPO₄溶液,

充分混匀后调整pH值至6.0, 即得2×母液, 贮存备用。

3) 1% 盐酸酒精

浓盐酸与75%酒精按照1:99比例混合, 充分混匀。

4) 柠檬酸钠 (pH 6, 10 mmol/L)

C₆H₈O₇·H₂O 柠檬酸 [210.14]0.4g

Na₃C₆H₅O₇·2H₂O 柠檬酸三钠 [294.12]3g

用单蒸水定容至1000 mL。

5) EDTA缓冲液 (pH 8.5, 2 mmol/L)

EDTA [292.24]0.5845 g

先加入900 mL单蒸水, 用磷酸二氢钠将pH调至8.5,

最后定容至1000 mL。

6 水稻原生质体分离试剂

1) 0.2 mol/L MES (2-N-吗啉-乙基磺酸)

MES [213.25].....4.265 g

用 KOH 调节 pH 至 5.7, 溶于 100 ml ddH₂O, 用 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

2) 0.8 mol/L Mannitol (甘露醇)

Mannitol [182.17].....7.29 g

溶于 50ml ddH₂O, 用 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

3) 1 mol/L CaCl₂

CaCl₂·2H₂O [147.02].....1.47 g

溶于 10ml ddH₂O, 用 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

4) 2 mol/L KCl

KCl [74.55].....1.49 g

溶于 10ml ddH₂O, 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

5) 2 mol/L MgCl₂

MgCl₂·6H₂O [203.3].....4.066 g

溶于 10ml ddH₂O, 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

6) 10% BSA (牛血清白蛋白)

BSA.....1 g

溶于 10ml ddH₂O, 0.45 μ m 滤孔过滤灭菌。

7) Cellulase R10, 纤维素酶 R10;

8) Macerozyme R10, 离析酶 R10。

Digestion Solution 酶解液

Stock	Make 10 mL	Make 20 mL	Final concentration
MES (0.2 mol/L, pH 5.7)	0.5 mL	1 mL	10 mmol/L
Mannitol (0.8 mol/L)	7.5 mL	15 mL	0.6 mol/L
CaCl ₂ (1 mol/L)	0.01 mL	0.01 mL	1 mmol/L
β-Mercaptoethanol	0.003 mL	0.006 mL	5 mmol/L
BSA (10%)	0.1 mL	0.2 mL	0.10%
Cellulase R10	0.15 g	0.3 g	1.50%
Macerozyme R10	0.075 g	0.15 g	0.75%
H ₂ O	1.89 mL	3.78 mL	--

➤ **备注：**现配现用。

W5 Solution

Stock	Make 10 mL	Make 50 mL	Final concentration
MES (0.2 mol/L, pH 5.7)	0.1 mL	0.5 mL	2 mmol/L
NaCl (5 mol/L)	0.308 mL	1.54 mL	154 mmol/L
KCl (2 mol/L)	0.025 mL	0.125 mL	5 mmol/L
CaCl ₂ (1 mol/L)	1.25 mL	6.25 mL	125 mmol/L
H ₂ O	8.317 mL	41.585 mL	--

细胞壁成分测定

1 纤维素、半纤维素和果胶提取

磷酸缓冲液 (pH 7.0, 0.5 mol/L)

$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [228.22].....70.1 g

KH_2PO_4 [136].....26.1 g

单蒸水定容至 1 L。

氯仿-甲醇 (1:1)

氯仿 [119.38].....50 mL

甲醇 [32.04].....50 mL

总体积为 100 mL。

DMSO-H₂O

二甲亚砜 (DMSO) [78].....90 mL

单蒸水 [18].....10 mL

0.5% 草酸铵

草酸铵 [124].....2.5126 g

H₂O [18].....500 mL

KOH (4 mol/L, 含 1 mg/mL NaHB₄)

KOH [56].....112 g

NaHB₄ [37.8].....500 mg

单蒸水定容至 0.5 L

➤ 备注:

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。

67% (v/v) H₂SO₄-72% (w/w) H₂SO₄

浓硫酸 [98.08]: 332.5 mL 溶于 150 mL 水
冷却后用单蒸水定容至 500 mL。

2 晶体纤维素提取

乙酸-硝酸-水 (8:1:2)

乙酸 [60.05].....80 mL
硝酸 [63.01].....10 mL
H₂O [18.02].....20 mL

3 木质素提取

苯-乙醇

苯 [78].....67 mL
乙醇 [46.07].....33 mL
总体积为 100 mL。

2.88% H₂SO₄ (w/w)

72% (w/w) H₂SO₄ [98.08].....10 mL
单蒸水定容至 250 mL。

4 粗纤维素提取

8% NaClO₂ (w/v)

NaClO₂ [90.44]8 g
醋酸/HAc1.5 mL
用单蒸水定容至 100 mL。

5 己糖和戊糖测定

H₂SO₄-蒽酮

蒽酮 [194].....0.2 g
浓硫酸 [98.08].....100 mL

苔黑酚溶液

苔黑酚 [142].....0.6 g
无水乙醇 [46.07].....10 mL

FeCl₃-HCl 溶液

FeCl₃ [270]0.1 g
浓盐酸 [36.5].....100 mL

6 果胶质和糖醛酸测定

Na₂B₄O₇-H₂SO₄

Na₂B₄O₇ · 10H₂O [381].....0.5 g
浓硫酸 [98.08].....100 mL
总体积为 100 mL。

间羟基联苯溶液

间羟基联苯 [170.21].....0.15 g
NaOH [40].....0.5 g
单蒸水定容至 100 mL。

7 键连接分析

NaOH (1 mol/L, 含 1 mg/mL NaHSO₃)

NaOH [40]4 g

NaHSO₃ [104.06]0.1 g

用 100 mL 单蒸水溶解。

NaOH (4 mol/L, 含 1mg/mL NaHSO₃)

NaOH [40]16 g

NaHSO₃ [104.06]0.1 g

用 100 mL 单蒸水溶解。

8 硅烷化分析

甲氧基氨基盐酸盐 (20 mg/mL)

CH₃CINO [83.52]200 mg

用 10 mL 吡啶溶液溶解。

9 2-AB 衍生化分析

试剂:

冰乙酸

85% 甲醇

氯仿

80% 乙腈

MixA: 0.064 g 氰基硼氢化钠 + 0.041g 2-氨基苯甲酰胺溶解于 700 μL DMSO 中。

➤ 注意：剧毒药品注意防护。

10 其他试剂

2% NaHCO₃ (w/v)

NaHCO₃ [84].....2 g

单蒸水.....100 mL

总体积为 100 mL。

EDTA (1 mmol/L)

Na₂EDTA · 2H₂O [372.24].....0.372 g

单蒸水定容至 1 L。

耐热 α -淀粉酶

1:30 稀释于 100 mmol/L, pH 5.0 的醋酸钠缓冲液中。

半纤维素单糖测定

IS

肌醇 [180].....0.2 g

水 [18].....100 mL

单蒸水定容至 100 mL。

10% NaHB₄

NaHB₄ [37.8].....1 g

氨水 [35.05].....10 mL

木质素单体测定

苯-乙醇

苯 [78].....67 mL
乙醇 [46.07].....33 mL
体积比 (v:v) 为 67:33, 总体积为 100 mL。

NaOH (2 mol/L)

NaOH [40].....80 g
用水定容至 1 L。

乙基香兰素 (萃取用) 内标 (4mg/mL)

乙基香兰素 [166.17].....0.4 g
2 mol/L NaOH [40].....100 mL
用 2 mol/L NaOH 定容至 100 mL。

二氯甲烷-乙酸乙酯 (1:1)

二氯甲烷 [84.93].....500 mL
乙酸乙酯 [88.11].....500 mL
体积比 (v:v) 为 1:1, 总体积为 1 L。

HCl (6 mol/L)

浓盐酸 [36.5].....100 mL
水 [18].....100 mL
体积比 (v:v) 为 1:1, 总体积为 200 mL。

HPLC 流动相

色谱甲醇 [32.04].....400 mL
 乙酸 [60.05].....25 mL
 ddH₂O.....1575mL
 体积比 (v:v:v) 为 16:1:63, 总体积为 2 L。
 用 0.22 μm 滤膜抽滤后, 再超声除气泡后上机。

木质素单体标曲-HPLC**乙基香兰素 (HPLC 用, 0.16 mg/mL) 溶液 1**

乙基香兰素 [166.17].....0.0160 g
 色谱甲醇 [32.04].....100 mL
 用容量瓶定容至 100 mL。

H+G+S (各 50mg/mL) 溶液 2

H 单体 [122.12].....0.050 g
 G 单体 [152.15].....0.050 g
 S 单体 [182.17].....0.050 g
 用**溶液 1** 溶解, 再用容量瓶定容至 50 mL。

标曲

标样/内标浓度的比值	0.625	1.25	3.125	6.25
溶液 1 (mL)	9	8	5	0
溶液 2 (mL)	1	2	5	10

➤ **备注:** 标曲分别用容量瓶定容至 10 mL。

纤维素 DP 测定

1 mol/L 铜乙二胺溶液

- 1) 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）。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 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。

细胞壁降解转化

醋酸缓冲液 (pH 4.8, 0.2 mol/L)

NaAc [82.03].....49.2 g

冰醋酸 [60.05].....28.88 mL

单蒸水定容至 5 L。

2% NaOH (w/v)

NaOH [40].....2 g

水.....100 mL

1% H₂SO₄ (v/v)

H₂SO₄ [98.08].....1 mL

单蒸水定容至 100 mL。

10% CaO (w/w)

CaO [56]0.03 g

预处理样品质量为 0.3000 g, CaO: 样品 (w/w = 1:10),

加入 6 mL 的单蒸水。

3.2 g/L 纤维素复合酶液

纤维素复合酶.....0.32 g

醋酸缓冲液 (pH 4.8)100 mL

加入样品中时, 需不断搅拌。

1% Tween (v/v)

Tween-80 溶液先需要在热水中温浴 30 min，使其充分液化，再用移液管量取 20 mL，尽可能将移液管中残余的 Tween-80 完全溶解，稀释时用 80 mL 热水充分溶解，总体积为 100 mL，4 °C 冰箱保存。使用时稀释 20 倍，使得终浓度为 1 %。

0.5% PEG4000 (w/v)

PEG4000.....0.5 g

加入 100 mL 单蒸水溶解，4 °C 冰箱保存，使用时稀释 20 倍。

糖醇转化

磷酸缓冲液 (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 [18].....50 mL

浓硫酸 [98.08].....10 mL

单蒸水定容至 100 mL。

细胞壁孔隙度

Simons' Stains 缓冲液

5 mM KAl(SO₄)₂ [258].....1.29 g

1.5 mM NaCl [58.44].....0.0877 g

用单蒸水定容至 1000 mL。

Direct Yellow 11 (DY solution, 10 mg/mL)

Direct Yellow 11.....1 g

溶解于 100 mL ddH₂O，用 100 kDa 超滤管过滤，

3000 rpm 15 min 离心后收集上层滤液待用，4 °C 冰箱避光保存。

Direct Blue 15 (DB solution, 10 mg/mL)

Direct Blue 15.....1 g

溶解于 100 mL ddH₂O，4 °C 冰箱避光保存。

磷酸缓冲溶液 (pH 6.8)

0.3 mol/L Na₃PO₄ [164.26].....49.2780 g

1.4 mmol/L NaCl [58.44].....0.0818 g

用磷酸调节 pH 至 6.8，用 ddH₂O 定容至 1000 mL。

10 mg/mL 刚果红溶液

刚果红 [696.68]1 g

用 100 mL 上述 pH 6.8 磷酸缓冲液溶解。

备 页

备 页