天净沙系列

CAT#:220163

常温运输和保存

天净沙

CI 混合液（24:1，核酸纯化用）

CI Mixture

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是氯仿-异戊醇（Chloroform-Isoamyl Alcohol, CI）的 24:1 的混合液，用于核酸提取时去除蛋白质、多糖、脂类和酚类等杂质。

在基于苯酚的核酸纯化中，苯酚的作用是使裂解液中的蛋白质变性，同时抑制核酸酶对核酸的降解。用苯酚处理裂解液时，由于蛋白分子表面的很多极性基团与苯酚相似相溶，故蛋白分子溶于酚相，而核酸溶于水相，从而将核酸和蛋白质分开。但苯酚和水有 10%左右的互溶，因此酚抽提后，必须用 CI 混合液处理以让水和酚彻底分开，彻底去除水相中 10%左右的残留苯酚，否则它们会严重抑制后续的酶反应。CI 混合液中异戊醇的作用是降低表面张力，从而减少操作过程（常常有震荡步骤）中气泡的产生，而这些气泡的表面张力可能会使核酸断裂。另外，异戊醇还有助于水相和酚相分相，使离心后的上层水相（含核酸）、中间的变性蛋白相及下层有机溶剂相维持稳定，便于移取上清。

规格及成分

本产品采用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
CI 混合液 (24:1，核酸纯化用)	220163	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	220163sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期为 12 个月。

自备物品

如果用于沉淀法回收核酸，则需要无水乙醇或异丙醇、3 M 乙酸钠溶液 pH 5.2、75%乙醇和超纯水。如果用于过柱法回收核酸，则需要硅胶模离心吸附柱，上柱液，洗柱液和超纯水。

使用方法

该试剂为基于苯酚的核酸提取过程中的必须试剂，使用方法参考分子克隆手册等参考书， 或实验室 SOP。下列操作仅以 0.5 mL 样本供参考。

一、沉淀法：

1. 将 0.5 mL 含核酸的细胞裂解液，或含有核酸、DNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL 塑料离心管中。
2. 加入 0.5 mL 的自备 Tris-饱和酚（对 DNA 纯化）或酸酚（对 RNA 纯化）和 0.2 mL 的本产品。
3. 涡旋震荡 2 分钟。
4. 常温 13000×g 离心 5 分钟，溶液将呈两层相。将含有核酸的水相转移到一个新的离心管中。两相的相对位置跟样本比重有关，并不是任何时候无色

	水相都在上层。如果样本含盐浓度高，比重大，水相也可能在下层。 5. 在上清中加入 0.1 倍体积的 3 M 乙酸钠溶液，pH 5.2 和两倍体积的自备无水乙醇（两倍体积的乙醇可以用一倍体积的异丙醇替代），颠倒 10 次充分混匀。 6. 常温 13000×g 离心 15 分钟。 7. 小心弃上清，不要触及管底离心面的沉淀。 8. 加入 1 mL 75%乙醇，颠倒 10 次。 9. 常温 13000×g 离心 3 分钟。 10. 小心弃上清后短暂离心 30 秒，去掉残留的液体（约 50 μL）。 11. 室温敞开盖子两分钟。 12. 加入超纯水溶解核酸，然后进行浓度测定、电泳，PCR 等后续检测。 **二、过柱法：** 13. 将 0.5 mL 含核酸的细胞裂解液，或含有核酸、DNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL 塑料离心管中。 14. 加入 0.5 mL 的自备 Tris-饱和酚（对 DNA 纯化）或酸酚（对 RNA 纯化）和 0.2 mL 的本产品。 15. 涡旋震荡 2 分钟。 16. 常温 13000×g 离心 5 分钟，溶液将呈两层相。将含有核酸的无色水相转移到一个新的离心管中。两相的相对位置跟样本比重有关，并不是任何时候无色水相都在上层。如果样本含盐浓度高，比重大，也可能在下层。 17. 在上清中加入 2 倍体积的自备上柱液，所用体积跟所用上柱液的配方相关。 18. 颠倒混匀，取 0.7 mL 样本和上柱液的混合液上柱。 19. 常温 13000×g 离心半分钟，弃穿透液。 20. 再取 0.7 mL 样本和上柱液的混合液上同一个柱子。 21. 常温 13000×g 离心半分钟，弃穿透液。 22. 重复第 20-第 21 步，直到混合液全部上柱。 23. 加入 0.7 mL 洗柱液。 24. 常温 13000×g 离心半分钟，弃穿透液。 25. 重复第 23 和第 24 步一次。 26. 不加任何溶液，将吸附柱离心半分钟。 27. 在吸附柱中加入 30-50 μL 的超纯水，室温放置 2 分钟后，将吸附柱放入一个新的 1.5 mL 离心管中，13000×g 离心半分钟，收集的穿透液就是纯化

	的核酸溶液。 28. 对所得的核酸溶液进行浓度测定、电泳，PCR 等后续检测。
关联产品	Tris 饱和 PCI 混合液（pH 7.5，25:24:1，DNA 提取专用）