天净沙系列

CAT#:240760

常温运输与保存

天净沙

氯仿替代品

Chloroform Substitute

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

本产品为氯仿替代品。该溶液可以在实验中代替氯仿，它具有以下特点:

1. 氯仿是 2B 类致癌物，长期接触会对健康造成影响，而本产品是一种无毒的代替物。
2. 本产品分离效果好。
3. 绿色环保不会造成污染。
4. 不是管制品，符合国家相关规定。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
氯仿替代品	240760	250 mL	250 mL 棕色瓶
使用手册	240760sc	1 份	无

运输及保存

常温运输与保存，有效期两年。

自备物品

TRIzol、异丙醇、75%乙醇、RNase-free 水。

使用流程

下面是以 TRIzol 法提 RNA 为例介绍本产品使用方法。

1. 对贴壁细胞（10 平方厘米）：吸尽培养液，加入 1 mL 的 TRIzol 用枪充分吹打确保细胞全部裂解，然后将裂解液转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。
2. 对悬浮细胞（五百万至一千万个）：离心收集细胞，吸尽液体，加入 1 mL TRIzol,用枪充分吹打确保细胞全部裂解,然后将裂解液转移到干净的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。
3. 对新鲜组织（50-100 mg）：将新鲜组织剪切成小块，放入 10 mL 或 15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 的 TRIzol，用 Polytron 剪切式匀浆器冰上匀浆 30 秒左右，将匀浆液转移至新的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。注意：对肝、脾、胰、肾等细胞分裂十分旺盛的组织（细胞中含大量正在复制的 DNA），使用量不要超过 30-50 mg，否则十分容易产生 DNA 污染。对 10 mg 以下的组织，最好加入本公司的微量 RNA 助沉剂。
4. 对非冻型 RNA 保存液保存的组织（50-100 mg）：先用纸吸去 RNA 保存液后再剪切成小块，其余操作同第 3 步。RNA 保存液处理后的组织韧性很强，匀浆时间需要适当延长。
5. 对液氮中保存的组织（50-100 mg）：在研钵中研磨成粉，加入 1 mL TRIzol，

用枪充分吹打确保细胞全部裂解，然后将裂解液转移到干净的 1.5 mL 塑料离心管中，进入第 6 步。

6. 在装有裂解物/匀浆物的 1.5 mL 塑料离心管中加入 0.2 mL 氯仿替代品，振荡器上充分振荡混均 30 秒。注意：一定要把官底的溶液震荡起来，否则只是液面的振动。
7. 13000-15000×g 室温离心 3 分钟。
8. 将上清液（约 0.6 mL）转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中。下层有机相和中间层含有 DNA 和蛋白质，避免触及，否则将产生蛋白质和 DNA 污染。为保险起见，可以留下 50-100 μL 上清液不取。
9. 对脂类丰富的组织（如脂肪组织和脑组织），需再重复氯仿替代品抽提一到两次以让氯仿替代品充分去除脂类分子。
10. 在上清液中加入等体积的异丙醇，振荡器上振荡 30 秒混匀。
11. 13000-15000×g 室温离心 5 分钟，离心底的侧面将形成 RNA 沉淀。如果组织使用量低于 10 mg 或需要提高 RNA 回收率，可以将离心时间延长到 20 或 30 分钟。
12. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。
13. 在含 RNA 沉淀的离心管中加入 1mL 75%乙醇，振荡混匀 30 秒。
14. 13000-15000×g 室温离心 1 分钟。
15. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。
16. 重复第 13-15 的洗涤步骤一次（也可以省略）。
17. 短暂快速离心，用移液枪小心吸弃残留乙醇（约 50 μL）。注意不要吸弃 RNA 沉淀。此步十分重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的后续使用。
18. 室温放 1-2 分钟后立即加入 50-100 μL RNase-free 水使 RNA 沉淀溶解。千万不要用真空离心法使 RNA 沉淀过于干燥，否则 RNA 将变得十分难溶。RNA 样品可以立即使用或存放于-80℃待用。

附件：RNA 的浓度和质量检测

19. RNA 的浓度可以用 pH 在 7.5-8.2 的 TE 缓冲液将 5-10 μL RNA 稀释 10-20 倍后在 OD260 和 OD260 测光吸收，通过光吸收可以得出 RNA 浓度（1 OD260 的 RNA=40 μg/mL），进而计算出 RNA 的产量（浓度×体积）和产率（RNA 产量/组织用量）。RNA 的产率随组织的营养状态和组织的种类不同而不同，一般来说，代谢旺盛的组织（如肝脏和肾脏）RNA 的产率高，代

	谢不旺盛的组织（如肌肉和脂肪组织）RNA 的产率低。肌肉、胎盘和脑组织一般是 1-2 μg RNA/mg 组织，肝、胰和肾组织一般是 5-10 μg RNA/mg 组织，培养细胞一般是 5-15 μg/1E6 细胞。 20. RNA 的纯度通过 OD260/OD280 来确定，一般在 1.8-2.1 之间即算合格。但即使低于此范围，一般也不会影响 RT-PCR 等反应。如果有蛋白质污染，可以通过氯仿替代品抽提一次然后酒精沉淀去除，如果有多糖污染可以用本公司的 RNA 多糖清除剂去除。
关联产品	PCI 混合液（pH 4.5，125:24:1，RNA 提取专用）