天净沙系列

CAT#:220140

常温运输及保存

天净沙

水饱和 PCI 混合液(pH 6-7，25:24:1)

Water-Saturated PCI Mixture (pH 6-7, 25:24:1)

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

本产品是水饱和 PCI（25:24:1）的混合液，pH 值为 6-7，可用于 RNA 提取时去除蛋白质、多糖、脂类和酚类等杂质。本产品不能用于 DNA 提取。苯酚使蛋白质变性，同时抑制了 RNase 的降解作用。氯仿抽提加速有机相与液相分层，去除核酸溶液中的迹量酚。异戊醇减少蛋白质变性操作过程中产生的气泡。使用酚：氯仿：异戊醇抽提离心后的上层为含 RNA 的水相、中间为变性蛋白与 DNA，下层为有机溶剂相。由于苯酚与水有一定比例的互溶，所以如果使用非饱和酚，样品中的水分会进入酚相，样品会丢失。同时水相中也会有少量的酚，这些残留的酚会抑制后续酶反应。而饱和酚就没有丢失样品的缺点，因为它已经提前充分吸足了水分（饱和酚中含 10%左右的水分），因此不会丢失样品。但由于仍然会有少数酚进入水相，抑制后续反应。氯仿的作用是让水和酚彻底分开，不互溶，彻底去除水相中的残留苯酚。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 DNA 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、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。本产品仅应用于科研。

规格及成分

本产品使用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
水饱和 PCI 混合液 (25:24:1)	220140	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	220140sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备物品

如果用于沉淀法回收 RNA，则需要无水乙醇或异丙醇、3 M RNase-free 乙酸钠溶液 pH 5.2、RNase-free 75%乙醇和 RNase-free 水（或 DEPC 水）。如果用于过柱法回收 RNA，则需要硅胶模离心吸附柱，上柱液，洗柱液和 RNase-free 水（或 DEPC 水）。

使用方法

该试剂为 RNA 提取过程中的常用试剂，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 RNA 的细胞裂解液，或含有 RNA、DNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL RNase-free 塑料离心管中。
2. 加入等体积的本产品，即 0.5 mL。
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 RNA 的无色水相转移到一个新的 RNase-free 离心管中，剩下的有机相将呈蓝色。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。
5. 在上清中加入 0.1 倍体积的 3 M RNase-free 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 RNase-free 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 DEPC 水或 RNase-free 水溶解 RNA，然后进行浓度测定、电泳，RT-PCR 等后续检测。

二、过柱法：

13. 将 0.5 mL 含 RNA 的细胞裂解液，或含有 RNA、DNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL RNase-free 塑料离心管中。
14. 加入等体积的本产品，即 0.5 mL。
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 RNA 的无色水相转移到一个新的 RNase-free 离心管中，剩下的有机相将呈蓝色。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 1-2 倍体积自备上柱液，所用体积跟所用上柱液的配方相关。
18. 颠倒混匀，取 0.7 mL 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-上柱液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-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 DEPC 水或 RNase-free 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 RNA 溶液。 28. 对所得的 RNA 溶液进行浓度测定、电泳，RT-PCR 等后续检测。
关联产品	Tris 饱和 PCI 混合液（pH 8.0，25:24:1，DNA 提取专用）

20241014zhy