天净沙系列

CAT#:5-759B

常温运输和保存

天净沙

PCI 混合液（无色，pH 4.5，25:24:1，RNA 提取专用）

PCI Mixture（for RNA）

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

本产品是苯酚-氯仿-异戊醇 (Phenol-Chloroform-Isoamyl Alcohol，PCI) 的 25:24:1 的混合液，pH 偏酸性，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。

RNA 纯化时苯酚的作用是使裂解液中的蛋白质变性，同时抑制 RNase 对 RNA 的降解作用。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 RNA 溶于水相，从而将 RNA 和蛋白质分开。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，从水溶液中沉淀得到的 RNA 就没有酚污染。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 RNA 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 RNA)、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
PCI 混合液（无色，pH 4.5，25:24:1，RNA 提取专用）	5-759B	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	5-759B sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期为 12 个月。

自备试剂

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。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，无色水相也可能在下层。

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。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 1-2 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 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 7.5，25:24:1，DNA 提取专用）