天净沙系列

CAT#:5-974

常温运输及保存

天净沙

Tris 饱和 PCI 混合液（25:24:1 pH 8.0）

Tris-Saturated PCI Mixture (25:24:1 pH 8.0)

使用手册 V1.1

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 Tris PCI 的 25:24:1 的混合液，pH 偏碱性，用于 DNA 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 RNA 提取。DNA 纯化时苯酚的作用是使裂解液中的蛋白质变性，同时抑制 DNase 对 DNA 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 DNA 溶于水相，从而将 DNA 和蛋白质分开。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（含 DNA）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，从水溶液中沉淀得到的 DNA 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 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（含 DNA）、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
Tris 饱和 PCI 混合液 (25:24:1 pH 8.0)	5-974	250 mL	250 mL 棕玻瓶
使用手册	5-974sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期 12 个月。

自备物品

如果用于沉淀法回收 DNA，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 DNA，则需要硅胶模离心吸附柱，上柱液，洗柱液和超纯水。

使用流程

该试剂为 DNA 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。**注：常温下若溶液分层，取下层溶液使用，上层为保护层。**

一、沉淀法：

1. 将 0.5 mL 含 DNA 的细胞裂解液，或含有 DNA、RNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL 塑料离心管中。
2. 加入等体积的本产品（取下层使用），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 DNA 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 乙酸钠溶液，pH 5.2 和两倍体积自备无水乙醇（两倍体积乙醇可以用一倍体积异丙醇替代），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 DNA，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 DNA 的细胞裂解液，或含有 DNA、RNA、蛋白质、脂类的混合液转移到 1.5 mL 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 DNA 的无色水相转移到一个新的离心管中，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. 在上清中加入 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 DNA 溶液。

	28. 对所得的 DNA 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 25:24:1 pH 7.5

20240829zhy