

Buffer PEX (pH<5.0) 说明书

产品组成

Cat. No.	9045100
Buffer PEX (pH<5.0)	100 ml
说明书	1 份

产品储存与有效期

请将产品储存于 2~8°C, 有效期为 1 年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部: e-mail: technical@simgen.cn, 电话: 400-0099-857。

产品介绍

Buffer PEX (pH<5.0) 是传统 RNA 抽提溶液“苯酚/氯仿/异戊醇 (25:24:1)”的替代试剂, 由水饱和酚和 Buffer EX (氯仿替代试剂) 组成, pH<5.0, 可用于样本中 RNA 的提取。经过各种裂解缓冲液溶解的生物样本, 可通过 Buffer PEX (pH<5.0) 的处理, 除去样本中的蛋白、多糖、酚类等杂质, 获得的含有 RNA 的上清液再加入乙醇或异丙醇即可使 RNA 沉淀分离出来。

Buffer PEX (pH<5.0) 可以使蛋白质变性, 同时抑制了 RNase 的降解作用, 样本经 Buffer PEX (pH<5.0) 处理离心后分为三层, 上层为含 RNA 的水相, 中间为变性蛋白相, 下层为有机溶剂相。

用户需自备的试剂与物品

1. 经裂解缓冲液溶解后的生物样本
2. 2 M 乙酸钠溶液 (pH 4.0), 异丙醇, 75% 乙醇 (用 DEPC 水配制), DEPC 水 (Simgen, Cat. No. 9003100)
3. 可能需要 DNase I (Simgen, Cat. No. 8003050)
4. RNase-free 离心管、移液器及吸头 (为避免 RNA 酶的污染, 建议选用含有滤芯的 RNase-free 吸头)
5. 一次性手套及防护用品和纸巾
6. 台式小量离心机、旋涡振荡器

注意事项

1. Buffer PEX (pH<5.0) 有较强的腐蚀性, 请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作, 避免皮肤接触或吸入体内。
2. Buffer PEX (pH<5.0) 长期静置后会分相析出少量水相, 取下层有机相使用。
3. 本产品含抗氧化剂 8-羟基喹啉, 呈淡黄色。若发现产品变为红色或棕色, 表明已发生氧化, 不能继续使用。
4. 提取的 RNA 可能含有 DNA 污染, 若需彻底去除 DNA, 请用不含 RNA 酶的 DNase I (Simgen, Cat. No. 8003050) 处理获得的 RNA; 如果要进一步纯化 DNase I 消化后的 RNA, 可选购 RNA 纯化试剂盒(Simgen, Cat. No. 5401050)。

操作步骤:

1. 先将样本用样本裂解液处理好, 加入 0.1 倍体积的 2 M 乙酸钠溶液 (pH 4.0), 以保证溶液的 pH 值为酸性。

* 例如有 1 ml 样本裂解产物, 则加入 100 μ l 2 M 乙酸钠溶液 (pH 4.0)。

2. 将样本裂解产物转移到一个新的离心管中, 加入等体积的 Buffer PEX (pH <5.0), 剧烈摇晃混匀 8-10 次, 再旋涡振荡 30 秒混合均匀, 4°C, 12000 rpm 离心 15 分钟。

* 例如有 1 ml 样本裂解产物, 则加入 1 ml Buffer PEX (pH <5.0)。

* 注意吸取下层淡黄色的 Buffer PEX 使用, 勿吸取覆盖于上层的无色水相。

3. 吸取上层水相到一个新的离心管中, 加入等体积的异丙醇, 轻柔混匀, 4°C, 12000 rpm 离心 10 分钟。

* 例如有 1 ml 上层水相, 则加入 1 ml 异丙醇。

* 如果样本中 RNA 含量较低, 冰浴 30 分钟后再离心, 可提高 RNA 的回收效率。

4. 弃上清, 加入 1 ml 75% 乙醇, 旋涡振荡 30 秒漂洗沉淀, 4°C, 12000 rpm 离心 3 分钟。

5. 弃上清, 低速离心数秒, 用 200 μ l 吸头小心吸弃残留乙醇。

6. 室温静置数分钟使残余乙醇挥发。加入适量(50-200 μ l)DEPC 水(Simgen Cat. No. 9003100), 使 RNA 沉淀溶解。溶解的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验; 或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

* 不要完全晾干 RNA, 否则会使 RNA 难以溶解。

* 从某些样本中提取 RNA 时, RNA 不是在离心管管底形成白点, 而是会以均匀的薄雾状沉淀形式吸附在管壁上。请注意仔细观察并在此步骤操作时特别留意将 DEPC 水加到管壁的相应位置上溶解 RNA。

* 提取的 RNA 中通常都会含有少量 DNA 污染, 如果需要完全去除 DNA, 参考注意事项 3 内容解决。