Buffer PEX（pH＜5.0）说明书

产品组成

Cat. No.	9045100	9045500
Buffer PEX（pH＜5.0）	100 ml	500 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

请将产品储存于 2~8℃，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. 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 µl 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），盖上管盖，剧烈摇晃混匀 8-10 次，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，4℃，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，盖上管盖，轻柔混匀，4℃，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，盖上管盖，旋涡振荡 30 秒漂洗沉淀，4℃，12000 rpm 离心 3 分钟。**
5. **弃上清，低速离心数秒，用 200 µl 吸头小心吸弃残留乙醇。**
6. **室温开盖静置数分钟使残余乙醇挥发。**

* 不要完全晾干 RNA，否则会使 RNA 难以溶解。

7. **加入适量（50-200 µl）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℃以下备用。**

* 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，请参考“注意事项”第 4 点内容解决。