杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖区西园一路 8 号 4 幢 5F
官方网站：www.simgen.cn 电话：0571-87381295

Buffer PEX（pH＞7.8）说明书

产品组成

Cat. No.	9043100	9043500
Buffer PEX（pH＞7.8）	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＞7.8）是传统 DNA 抽提溶液“苯酚/氯仿/异戊醇（25:24:1）”的替代试剂，由 Tris 饱和酚和 Buffer EX（氯仿替代试剂）组成，pH＞7.8，可用于样本中基因组 DNA 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＞7.8）的处理，除去样本中的蛋白、多糖、酚类等杂质，获得的含有 DNA 的上清液再加入乙醇或异丙醇即可使 DNA 沉淀分离出来。

Buffer PEX（pH＞7.8）可以使蛋白质变性，样本经 Buffer PEX（pH＞7.8）处理离心后分为三层，上层为含 DNA 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. 异丙醇、75%乙醇，TE Buffer（Simgen Cat. No. 9006500）
3. 可能需要 1 M Tris-HCl（pH 8.0）（Simgen Cat. No. 9015500），RNase A（Simgen Cat. No. 8001001）
4. 离心管、移液器及吸头
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＞7.8）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＞7.8）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 DNA 可能含有 RNA 污染，但并不影响 PCR 相关实验。若需去除 RNA，可向 DNA 溶液中加入终浓度为 40 μg/ml 的 RNase A，37℃孵育 30 分钟；如果要进一步纯化 RNase A 消化后的 DNA，可选购 DNA 纯化试剂盒（Simgen Cat. No. 2101050）。

操作步骤

1. **先将样本用样本裂解液处理好，并确保样本裂解产物的 pH 值为 8.0 左右（如果样本裂解产物的 pH 值小于 7，可加入 0.1 倍体积的 1 M Tris-HCl（pH 8.0），将其调为 8.0 左右）。**

* 例如有 1 ml 样本裂解产物，则加入 100 µl 1 M Tris-HCl（pH 8.0）。

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＞7.8），盖上管盖，剧烈摇晃混匀 8-10 次，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，室温 12000 rpm 离心 10 分钟。**

* 例如有 1 ml 样本裂解产物，则加入 1 ml Buffer PEX（pH＞7.8）。

* 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 0.6 倍体积的异丙醇，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 600 µl 异丙醇。

* 如果样本中 DNA 含量较低，冰浴 30 分钟后再离心，可提高 DNA 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 DNA，否则会使 DNA 难以溶解。

7. **加入适量（50-200 µl）TE Buffer（Simgen Cat. No. 9006500），使 DNA 沉淀溶解。溶解的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于－20℃以下备用。**

* 若 DNA 溶液中存在不可溶杂质，可于 4℃，12000 rpm 离心 10 分钟，吸取清澈的 DNA 溶液使用。

* 如果从新鲜的样本中提取 DNA，通常都会含有部分 RNA 污染，RNA 污染不影响 PCR 相关实验。如果需要完全去除 RNA，请参考“注意事项”第 4 点内容解决。