

DNA 提取 Tris 饱和酚试剂 (pH>7.8) 说明书

产品组成

Cat. No.	9042100
DNA 提取 Tris 饱和酚试剂 (pH>7.8)	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

本产品是经 Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0) 充分饱和的酚，pH 值在 7.8 左右，为浅黄色透明液体，有刺激性气味，常用于酚氯仿法从样品中去除蛋白，分离 DNA。上层为 Tris-HCl 缓冲液，可阻止酚与空气接触，减缓酚的氧化；下层为酚相，含抗氧化剂 8-羟基喹啉。

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. Buffer EX (Simgen, Cat. No. 9025100) (或者氯仿:异戊醇(24:1)溶液)，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. 台式少量离心机、旋涡振荡器

注意事项

1. DNA 提取 Tris 饱和酚试剂 (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. 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。
3. 提取的 DNA 可能含有 RNA 污染，但并不影响 PCR 相关实验。如需去除 RNA，可向 DNA 溶液中加入终浓度为 40 µg/ml 的 RNase A，37°C 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. 先将生物样本用样本裂解液处理完毕，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 μ l 1 M Tris-HCl (pH 8.0)。

2. 加入 0.5 倍体积的 DNA 提取 Tris 饱和酚试剂 (pH>7.8)（注意取下层酚相使用，勿吸取上层 Tris-HCl 溶液）和 0.5 倍体积的 Buffer EX 或者氯仿：异戊醇(24：1)，剧烈摇晃后再旋涡振荡 10 秒以上混合均匀。

* 例如有 1 ml 样本裂解产物，则加入 500 μ l DNA 提取 Tris 饱和酚试剂 (pH>7.8) 和 500 μ l Buffer EX。

* 氯仿：异戊醇(24：1)是体积比为 24：1 的氯仿、异戊醇混合液，可用本公司的氯仿替代试剂 Buffer EX (Simgen, Cat. No. 9025100) 替换，不影响提取效果。

3. 4°C，12000 rpm 离心 15 分钟，吸取上层水相，加入 0.6 倍体积的异丙醇，轻柔混匀，4°C，12000 rpm 离心 10 分钟。

* 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。

* 例如有 1 ml 上层水相，则加入 600 μ l 异丙醇。

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 吸头小心吸弃残留的乙醇。

6. 室温静置数分钟使残余乙醇挥发。加入适量 (50-200 μ l) TE Buffer，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°C 以下备用。

* 不要完全晾干 DNA，否则会使 DNA 难以溶解。

* 若 DNA 溶液中存在不可溶杂质，可于 4°C，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。但如果需要完全去除 RNA，参考注意事项 3 内容解决。