

实验室常用试剂、缓冲液的配制方法

1 M Tris-HCl (pH7.4, 7.6, 8.0)	■ 组份浓度	1 M Tris-HCl		
	■ 配制量	1 L		
	■ 配制方法	1. 称量 121.1 g Tris 置 于 1 L 烧杯中。		
		2. 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。		
		3. 按下表量加入浓盐酸调节所需要的 pH 值。		
		pH 值	浓 HCl	
		7.4	约 70 ml	
		7.6	约 60 ml	
		8.0	约 42 ml	
		4. 将溶液定容至 1 L。		
5. 高温高压灭菌后，室温保存。				
注意：应使溶液冷至室温后再调定 pH 值，因为 Tris 溶液的 pH 值随温度的变化差异很大，温度每升高 1℃，溶液的 pH 值大约降低 0.03 个单位。				
1.5 M Tris-HCl (pH8.8)	■ 组份浓度	1.5 M Tris-HCl		
	■ 配制量	1 L		
	■ 配制方法	1. 称量 181.7 g Tris 置 于 1 L 烧杯中。		
		2. 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。		
		3. 用浓盐酸调节 pH 值至 8.8。		
		4. 将溶液定容至 1 L。		
		5. 高温高压灭菌后，室温保存。		
	注意：应使溶液冷至室温后再调定 pH 值，因为 Tris 溶液的 pH 值随温度的变化差异很大，温度每升高 1℃，溶液的 pH 值大约降低 0.03 个单位。			
	10× TE Buffer (pH7.4, 7.6, 8.0)	■ 组份浓度	100 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA	
		■ 配制量	1 L	
■ 配制方法		1. 量取下列溶液，置于 1 L 烧杯中。		
		1 M Tris-HCl Buffer (pH 7.4,7.6,8.0)	100 ml	
		500 mM EDTA (pH 8.0)	20 ml	
		2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，均匀混合。		
		3. 将溶液定容至 1 L 后，高温高压灭菌。		
		4. 室温保存。		

3 M 醋酸钠 (pH5.2)

- 组份浓度 3 M 醋酸钠
- 配制量 100 ml
- 配制方法
 1. 称量 40.8 g $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 置于 100~200 ml 烧杯中, 加入约 40 ml 的去离子水搅拌溶解。
 2. 加入冰醋酸调节 pH 值至 5.2。
 3. 加去离子水将溶液定容至 100 ml。
 4. 高温高压灭菌后, 室温保存。

PBS Buffer

- 组份浓度 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na_2HPO_4 ,
2 mM KH_2PO_4
- 配制量 1 L
- 配制方法
 1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
Na_2HPO_4	1.42 g
KH_2PO_4	0.27 g
 2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。
 3. 滴加浓盐酸将 pH 值调节至 7.4, 然后加入去离子水将溶液定容至 1 L。
 4. 高温高压灭菌后, 室温保存。

注意: 上述 PBS Buffer 中无二价阳离子, 如需要, 可在配方中补充 1 mM CaCl_2 和 0.5 mM MgCl_2 。

10 M 醋酸铵

- 组份浓度 10 M 醋酸铵
- 配制量 100 ml
- 配制方法
 1. 称量 77.1 g 醋酸铵置于 100~200 ml 烧杯中, 加入约 30 ml 的去离子水搅拌溶解。
 2. 加去离子水将溶液定容至 100 ml。
 3. 使用 0.22 μm 滤器过滤除菌。
 4. 密封瓶口于室温保存。

注意: 醋酸铵受热易分解, 所以不能高温高压灭菌。

Tris-HCl 平衡苯酚

■ 配制方法

1. 使用原料：大多数市售液化苯酚是清亮无色的，无需重蒸馏便可用于分子生物学实验。但有些液化苯酚呈粉红色或黄色，应避免使用，同时也应避免使用结晶苯酚，结晶苯酚必须在 160℃ 对其进行重蒸馏除去诸如醌等氧化产物，这些氧化产物可引起磷酸二酯键的断裂或导致 RNA 和 DNA 的交联等。因此，苯酚的质量对 DNA、RNA 的提取极为重要，我们推荐使用高质量的苯酚进行分子生物学实验。
2. 操作注意：苯酚腐蚀性极强，并可引起严重灼伤，操作时应戴手套及防护镜等。所有操作均应在通风橱中进行，与苯酚接触过的皮肤部位应用大量水清洗，并用肥皂和水洗涤，忌用乙醇。
3. 苯酚平衡：因为在酸性 pH 条件下 DNA 分配于有机相，因此使用苯酚前必须对苯酚进行平衡使其 pH 值达到 7.8 以上，苯酚平衡操作方法如下：
 - ① 液化苯酚应贮存于 -20℃，此时的苯酚呈结晶状态。从冰柜中取出的苯酚首先在室温下放置使其达到室温，然后在 68℃ 水浴中使苯酚充分融解。
 - ② 加入羟基喹啉（8-Quinolol）至终浓度 0.1%。该化合物是一种还原剂、RNA 酶的不完全抑制剂及金属离子的弱螯合剂，同时因其呈黄色，有助于方便识别有机相。
 - ③ 加入等体积的 1 M Tris-HCl (pH8.0)，使用磁力搅拌器搅拌 15 分钟，静置使其充分分层后，除去上层水相。
 - ④ 重复操作步骤③。
 - ⑤ 加入等体积的 0.1 M Tris-HCl (pH8.0)，使用磁力搅拌器搅拌 15 分钟，静置使其充分分层后，除去上层水相。
 - ⑥ 重复操作步骤⑤，稍微残留部分上层水相。
 - ⑦ 使用 pH 试纸确认有机相的 pH 值大于 7.8。
 - ⑧ 将苯酚置于棕色玻璃瓶中 4℃ 避光保存。

苯酚/氯仿/异戊醇

(25 : 24 : 1)

■ 配制方法

1. 说明：从核酸样品中除去蛋白质时常常使用苯酚/氯仿/异戊醇（25 : 24 : 1）。氯仿可使蛋白质变性并有助于液相与有机相的分离，而异戊醇则有助于消除抽提过程中出现的气泡。
2. 配制方法：将 Tris-HCl 平衡苯酚与等体积的氯仿/异戊醇（24 : 1）混合均匀后，移入棕色玻璃瓶中 4℃ 保存。

10% (W/V) SDS	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 10% (W/V) SDS ■ 配制量 100 ml ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 称量 10 g 高纯度的 SDS 置于 100~200 ml 烧杯中, 加入约 80 ml 的去离子水, 68℃加热溶解。 2. 滴加浓盐酸调节 pH 值至 7.2。 3. 将溶液定容至 100 ml 后, 室温保存。
2 N NaOH	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 2 N NaOH ■ 配制量 100 ml ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 量取 80 ml 去离子水置于 100~200 ml 塑料烧杯中 (NaOH 溶解过程中大量放热, 有可能使玻璃烧杯炸裂)。 2. 称取 8 g NaOH 小心地逐渐加入到烧杯中, 边加边搅拌。 3. 待 NaOH 完全溶解后, 用去离子水将溶液定容至 100ml。 4. 将溶液转移至塑料容器中后, 室温保存。
2.5 N HCl	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 2.5 N HCl ■ 配制量 100 ml ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 在 78.4 ml 的去离子水中加入 21.6 ml 的浓盐酸(11.6 N), 均匀混合。 2. 室温保存。
5 M NaCl	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 5 M NaCl ■ 配制量 1 L ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 称取 292.2 g NaCl 置于 1 L 烧杯中, 加入约 800 ml 的去离子水后搅拌溶解。 2. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后, 适量分成小份。 3. 高温高压灭菌后, 4℃保存。
20% (W/V) Glucose	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 20% (W/V) Glucose ■ 配制量 100 ml ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 称取 20 g Glucose 置于 100~200 ml 烧杯中, 加入约 80 ml 的去离子水后, 搅拌溶解。 2. 加去离子水将溶液定容至 100 ml。 3. 高温高压灭菌后, 4℃保存。

Solution I (质粒提取用)	<div> <div>■ 组份浓度</div> <div>25 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM EDTA, 50 mM Glucose</div> </div> <div> <div>■ 配制量</div> <div>1 L</div> </div> <div> <div>■ 配制方法</div> <div> 1. 量取下列溶液, 置于 1 L 烧杯中。 <table border="1" data-bbox="817 340 1465 510"> <tr> <td>1 M Tris-HCl (pH8.0)</td><td>25 ml</td></tr> <tr> <td>0.5 M EDTA (pH8.0)</td><td>20 ml</td></tr> <tr> <td>20% Glucose (1.11 M)</td><td>45 ml</td></tr> <tr> <td>dH₂O</td><td>910 ml</td></tr> </table> 2. 高温高压灭菌后, 4℃保存。 3. 使用前每 50 ml 的 Solution I 中加入 2 ml 的 RNase A (20 mg/ml)。 </div> </div>	1 M Tris-HCl (pH8.0)	25 ml	0.5 M EDTA (pH8.0)	20 ml	20% Glucose (1.11 M)	45 ml	dH ₂ O	910 ml
1 M Tris-HCl (pH8.0)	25 ml								
0.5 M EDTA (pH8.0)	20 ml								
20% Glucose (1.11 M)	45 ml								
dH ₂ O	910 ml								

1 M DTT

- 组份浓度 1 M DTT
- 配制量 20 ml
- 配制方法
 1. 称取 3.09 g DTT, 加入到 50 ml 塑料离心管内。
 2. 加入 20 ml 的 0.01 M NaOAc (pH5.2), 溶解后使用 0.22 μ m 滤器过滤除菌。
 3. 适量分成小份后, -20°C保存。

10 mM ATP

- 组份浓度 10 mM ATP
- 配制量 20 ml
- 配制方法
 1. 称取 121 mg $\text{Na}_2\text{ATP} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 加入到 50 ml 塑料离心管内。
 2. 加 20 ml 的 25 mM Tris-HCl (pH8.0), 搅拌溶解。
 3. 适量分成小份后, -20°C保存。