

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
 - 称量 121.1 g Tris 置于 1 L 烧杯中。
 - 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
 - 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

- 将溶液定容至 1 L。
 - 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
 - 称量 181.7 g Tris 置于 1 L 烧杯中。
 - 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
 - 用浓盐酸调节 pH 值至 8.8。
 - 将溶液定容至 1 L。
 - 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
 - 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
 - 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，均匀混合。
 - 将溶液定容至 1 L 后，高温高压灭菌。
 - 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 NaOAc · 3H₂O 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 Na₂HPO₄,
2 mM KH₂PO₄
- 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 ₂ HPO ₄	1.42 g
KH ₂ PO 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 CaCl₂ 和 0.5 mM MgCl₂。

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 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°C 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°C，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°C 水浴中使苯酚充分融解。
 - ② 加入羟基喹啉 (8-Quinololinol) 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°C 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°C 保存。

10% (W/V) SDS	■ 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°C 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	■ 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	■ 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	■ 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°C 保存。

20% (W/V) Glucose	■ 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°C 保存。

Solution I (质粒提取用)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 25 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM EDTA, 50 mM Glucose ■ 配制量 1 L 								
	<ul style="list-style-type: none"> ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 量取下列溶液, 置于 1 L 烧杯中。 <table border="1" data-bbox="813 406 1460 581" style="margin-left: 40px;"> <tbody> <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> </tbody> </table> 2. 高温高压灭菌后, 4°C保存。 3. 使用前每 50 ml 的 Solution I 中加入 2 ml 的 RNase A (20 mg/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 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								
Solution II (质粒提取用)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 200 mM NaOH, 1% (W/V) SDS ■ 配制量 500 ml 								
	<ul style="list-style-type: none"> ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 量取下列溶液, 置于 500 ml 烧杯中。 <table border="1" data-bbox="813 941 1460 1034" style="margin-left: 40px;"> <tbody> <tr> <td>10% SDS</td> <td>50 ml</td> </tr> <tr> <td>2 N NaOH</td> <td>50 ml</td> </tr> </tbody> </table> 2. 加灭菌水定容至 500 ml, 充分混匀。 3. 室温保存。此溶液保存时间最好不要超过一个月。 注意: SDS 易产生气泡, 不要剧烈搅拌。 	10% SDS	50 ml	2 N NaOH	50 ml				
10% SDS	50 ml								
2 N NaOH	50 ml								
Solution III (质粒提取用)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 3 M KOAc, 5 M CH₃COOH ■ 配制量 500 ml 								
	<ul style="list-style-type: none"> ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 称量下列试剂, 置于 500 ml 烧杯中。 <table border="1" data-bbox="813 1429 1460 1522" style="margin-left: 40px;"> <tbody> <tr> <td>KOAc</td> <td>147 g</td> </tr> <tr> <td>CH₃COOH</td> <td>57.5 ml</td> </tr> </tbody> </table> 2. 加入 300 ml 去离子水后搅拌溶解。 3. 加入去离子水将溶液定容至 500 ml。 4. 高温高压灭菌后, 4°C保存。 	KOAc	147 g	CH ₃ COOH	57.5 ml				
KOAc	147 g								
CH ₃ COOH	57.5 ml								
0.5 M EDTA (pH8.0)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 组份浓度 0.5 M EDTA ■ 配制量 1 L 								
	<ul style="list-style-type: none"> ■ 配制方法 <ol style="list-style-type: none"> 1. 称取 186.1 g Na₂EDTA · 2H₂O, 置于 1 L 烧杯中。 2. 加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌。 3. 用 NaOH 调节 pH 值至 8.0 (约 20 g NaOH)。 注意: pH 至 8.0 时, EDTA 才能完成溶解。 4. 加去离子水将溶液定容至 1 L。 5. 适量分成小份后, 高温高压灭菌。 6. 室温保存。 								

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。