

目录

实验室常用试剂、缓冲液的配制方法.....	2
蛋白质电泳相关试剂、缓冲液配制方法.....	4
核酸电泳相关试剂、缓冲液的配制方法.....	6
核酸、蛋白质杂交用相关试剂缓冲液的配制方法.....	7
实验室常用培养基的配制方法	9



1 M Tris-HCl (pH7.4, 7.6, 8.0)

组份浓度 1 M Tris-HCl

配制量 1 L2

配制方法

1. 称量 121.1 g Tris 置于 1 L 烧杯中。
2. 加入的 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:应使溶液冷却至室温后再测定 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°C。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:应使溶液冷却至室温后再测定 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°C，溶液的 pH 值大约降低 0.03 个单位。

10xTE 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 1L 烧杯中。

1 M Tris-HCl Buffer (pH7.4, 7.6, 8.0)	100ml
500 mM EDTA (pH8.0)	20ml

2. 向烧料中加入约 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 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	8g
KCl	0.2g
Na ₂ HPO ₄	1.42g
KH ₂ PO ₄	0.27g

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 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凉无色的, 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), 其充分分层后, 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。

5 M NaCl

组份浓度 5 M NaCl

配制量 1L

配制方法

1. 称取 292.2g 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。

10% (WV) SDS

组份浓度 10% (W/V) SDS

配制量 100 ml

配制方法

1. 称量 10g 高纯度的 SDS 置于 100~200 ml 刚烧杯中, 加入约 80 ml 的去离子水, 68°C 加热溶解。
2. 滴加盐酸调节 pH 值至 7.2。
3. 将溶液定容至 100 ml 后, 室温保存。

2M NaOH

组份浓度 2M NaOH

配制量 100 ml

配制方法

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 完全容解后, 用去离子水将溶液定容至 100 ml。
4. 将溶液转移至塑料容器中后, 室温保存。

2.5M HCl

组份浓度 2.5M HCl

配制量 100 ml

配制方法

1. 在 78.4 ml 的去离子水中加入 21.6 ml 的浓盐酸 (11.6 M), 均匀混合。
2. 室温保存。

20% (WM) Glucose

组份浓度 20% (W/V) Glucose

配制量 100 ml

配制方法

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)

组份浓度 25 mM Tris-HCl (pH8.0), 10 mM EDTA, 50 mM Glucose

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 (pH8.0)	25 ml
0.5 M EDTA (pH8.0)	20 ml
20% Glucose (1.11 M)	45 ml
dHzO	910ml

2. 高温高压灭菌后，4℃保存。

3. 使用前每 50 ml 的 Soution I 中加入 2 ml 的 RNase A (20 mg/ml)

Solution II (质粒提取用)

组份浓度 200 mM NaOH，1% (W/V) SDS

配制量 500ml

配制方法

1. 量取下列溶液，置于 500 ml 烧杯中。

10% SDS	50 ml
2 M NaOH	50 ml

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。

Solution III (质粒提取用)

组份浓度 3 M KOAc，5 M CH₃COOH

配制量 500 ml

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 500 ml 烧杯中。

KOAc	147 g
CH ₃ COOH	57.5 ml

2. 加入 300 ml 去离子水后搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 500 ml。

4. 高温高压灭菌后，4℃保存。

0.5 M EDTA (pH8.0)

组份浓度 0.5 M EDTA

配制量 1 L

配制方法

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 值至 8.0 时，EDTA 才能完全溶解。

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 20 ml 的 0.01 M NaOAc (pH5.2)，溶解后使用 0.22 μm 滤器过滤除菌。

3. 适量分成小份后，-20℃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 Na₂ATP，3H₂O，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℃保存。



30% (W/V) Acrylamide

组份浓度 30% (W/V) Acrylamide

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Acrylamide	290 g
BIS	10 g

2. 向烧杯中加入约 600 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 1 L，用 0.45 μm 滤器滤去杂质。

4. 于棕色瓶中 4℃保存。

注意：丙烯酰胺具有神经毒性，可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套。聚丙烯酰胺无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚成份。

40% (W/V) Acrylamide

组份浓度 40% (W/V) Acrylamide

配制量 1L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Acrylamide	380 g
BIS	20 g

- 向烧杯中加入约 600 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
- 加去离子水将溶液定容至 1 L，用 0.45 μ m 滤器滤去杂质。
- 于棕色瓶中 4℃ 保存。

注意：丙烯酰胺具有神经毒性，可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套。聚丙烯酰胺无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚成份。

10% (W/V) 过硫酸铵

组份浓度 10% (W/V) 过硫酸铵

配制量 10 ml

配制方法

- 称取 1 g 过硫酸铵。
- 加入 10 ml 的去离子水后搅拌溶解。
- 贮存于 4° C。

注意：10%过硫酸铵溶液在 4℃ 保存时可使用 2 周左右，超过期限会失去催化作用。

5xTris-Glycine Buffer(SDS- PAGE 电泳缓液)

组份浓度 0.125 M Tris, 1.25 M Glycine, 0.5% (W/V) SDS

配制量 1L

配制方法

- 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Tris	15.1 g
Glycine	94 g
SDS	5.0 g

- 加入约 800ml 的去离子水，搅拌溶解。
- 加去离子水将溶液定容至 1 L 后，室温保存。

5x SDS-PAGE Loading Buffer

组份浓度

250 mM	Tris-HCl (pH6.8)
10% (W/V)	SDS
0.5% (W/V)	BPB
50% (W/V)	甘油
5% (W/V)	β -巯基乙醇 (2-ME)

配制量 5ml

配制方法

- 量取下列试剂，置于 10 ml 塑料离心管中。

1 M Tris-HCl (pH6.8)	1.25ml
SDS	0.5g
BPB	25mg
甘油	2.5ml

- 加去离子水溶解后定容至 5 ml。
- 小份 (500 μ l/份) 分装后，于室温保存。
- 使用前将 25 μ l 的 2-ME 加到每小份中。
- 加入 2-ME 的 Loading Buffer 可在室温下保存一个月左右。

考马斯亮蓝 R-250 染色液

组份浓度

0.1% (W/V)	考马斯亮蓝 R-250
25% (W/V)	异丙醇
10% (W/V)	冰醋酸

配制量 1 L

配制方法

- 称取 1 g 考马斯亮蓝 R-250，置于 1 L 烧杯中。
- 量取 250 ml 的异丙醇加入上述烧杯中，搅拌溶解。
- 加入 100 ml 的冰醋酸，搅拌均匀。
- 加入 650 ml 的去离子水，搅拌均匀。
- 用滤纸除去颗粒物质后，室温保存。

考马斯亮蓝染色脱色液

组份浓度

10% (W/V)	醋酸
5% (W/V)	乙醇

配制量 1L

配制方法

- 量取下列溶液，置于 1 L 烧杯中。

醋酸	100 ml
乙醇	50 ml
dH ₂ O	850 ml

- 充分混合后使用。

凝胶固定液(SDS-PAGE 银氨染色用)

组份浓度

50% (W/V)	甲醇
10% (W/V)	醋酸

配制量 1 L

配制方法

- 量取下列试剂，置于 1 L 试剂瓶中。

甲醇	500 ml
醋酸	100 ml
dH ₂ O	400 ml

2. 均匀混合后室温保存。

凝胶处理液(SDS-PAGE 银氨染色用)

组份浓度

50% (W/V)	甲醇
10% (W/V)	戊二醛

配制量 100 ml

配制方法

1. 量取下列试剂，加入 100~200 ml 的试剂瓶中。

甲醇	50 ml
戊二醛	10 ml
dH ₂ O	40 ml

2. 均匀混合后室温保存。

凝胶染色液(SDS-PAGE 银氨染色用)

组份浓度

0.4% (W/V)	AgNO ₃
1% (W/V)	浓 NH ₃ · H ₂ O
0.04% (W/V)	NaOH

配制量 100 ml

配制方法

1. 量取下列试剂，加入 100~200 ml 的试剂瓶中。

20% AgNO ₃	2 ml
浓 NH ₃ · H ₂ O	1 ml
4% NaOH	1 ml
dH ₂ O	96 ml

2. 均匀混合。该溶液应为无色透明状。如氨水浓度过低时溶液会呈混浊状，此时应补加浓氨水，直至透明。

3. 本染色液应现用现配，不宜保存。

显影液(SDS-PAGE 银氨染色用)

组份浓度

0.005% (W/V)	柠檬酸
0.02% (W/V)	甲醛

配制量 1L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 试剂瓶中。

柠檬酸	50mg
甲醛	0.2ml

2. 加入 1 L 去离子水后，摇动混合溶解。

3. 室温保存。



50x TAE Buffer (pH8.5)

组份浓度 2M Tris-醋酸, 100 mM EDTA

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Tris	242 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	37.2 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。

3. 加入 57.1 ml 的醋酸，充分搅拌。

4. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后，室温保存。

10x TBE Buffer (pH8.3)

组份浓度 890 mM Tris-硼酸, 20 mM EDTA

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Tris	108 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	7.44 g
硼酸	55 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后，室温保存。

10x MOPS Buffer

组份浓度 200 mM MOPS., 20 mM NaOAc., 10 mM EDTA

配制量 1L

配制方法

1. 称量 41.8 g MOPS, 置于 1 L 烧杯中。

2. 加约 700 ml DEPC 处理水，搅拌溶解。

3. 使用 2M NaOH 调节 pH 值至 7.0。

4. 再向溶液中加入下列试剂。

1M NaOAc (DEPC 处理)	20 ml
0.5 M EDTA (pH8.0) (DEPC 处理)	20 ml

5. 用 DEPC 处理水将溶液定容至 1 L。

6. 用 0.45 μm 滤膜过滤除去杂质。

7. 室温避光保存。

注意:溶液见光或高温灭菌后会变黄。变黄时也可使用,但变黑时不要使用。

溴乙锭(10 mg/ml)

组份浓度 10 mg/ml 溴乙锭

配制量 100 ml

配制方法

1. 称量 1 g 溴乙锭, 加入到 100 ml 容器中。
2. 加入去离子水 100 ml, 充分搅拌数小时完全溶解溴乙锭。
3. 将溶液转移至棕色瓶中, 室温避光保存。
4. 溴乙锭的工作浓度为 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 。

注意:溴乙锭是种致癌物质, 必须小心操作。

Agarose 凝胶

配制方法

1. 配制适量的电泳及制胶用的缓冲液(通常是 0.5 \times TBE 或 1 \times TAE)。
2. 根据制胶量及凝胶浓度, 准确称量琼脂糖粉, 加入适当的锥形瓶中。
3. 加入一定量的电泳缓冲液(总体量不宜超过锥形瓶的 50%容量)。

注:用于电泳的缓冲液和用于制胶的缓冲液必须统一。

4. 在锥形瓶的瓶口封上保鲜膜, 并在膜上扎些小孔, 然后在微波炉中加热熔化琼脂糖。加热过程中, 当溶液沸腾后, 请戴上防热手套, 小心摇动锥形瓶, 使琼脂糖充分均匀熔化。此操作重复数次, 直至琼脂糖完全熔化。必须注意, 在微波炉中加热时间不宜过长, 每次当溶液起泡沫沸腾时停止加热, 否则会引引起溶液过热暴沸, 造成琼脂糖凝胶浓度不准, 也会损坏微波炉。熔化琼脂糖时, 必须保证琼脂糖充分完全熔化, 否则, 会造成电泳图像模糊不清。
5. 使溶液冷却至 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 如需要可在此时加入溴乙锭溶液(终浓度 0.5 $\mu\text{g/ml}$), 并充分混匀。

注: 溴乙锭是种致癌物质。使用含有溴乙锭的溶液时, 请戴好手套。

6. 将琼脂糖溶液倒入制胶模中, 然后在适当位置处插上梳子。凝胶厚度一般在 3~5 mm 之间。

7. 在室温下使胶凝固(大约 30 分钟~ 1 小时), 然后放置于电泳槽中进行电泳。

注: 凝胶不立即使用时, 请用保鲜膜将凝胶包好后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存, 一般可保存 2~5 天。

琼脂糖凝胶浓度与线形 DNA 的最佳分辨范围

琼脂糖浓度	最佳线形 DNA 分辨范围(bp)
0.5%	1.000 ~ 30.000
0.7%	800 ~ 12.000
1.0%	500 ~ 10.000
1.2%	400 ~ 7.000
1.5%	200 ~ 3.000
2.0%	50 ~ 2.000

6x Loading Buffer (DNA 电泳用)

组份浓度

30 mM	EDTA
36% (V/V)	Glycerol
0.05% (WV)	Xylene Cyanol FF
0.05% (WV)	Bromophenol Blue

配制量 500 ml

配制方法

1. 称量下列试剂, 置于 500 ml 烧杯中。

EDTA	4.4 g
Bromophenol Blue	250 mg
Xylene Cyanol FF	250 mg

2. 向烧杯中加入约 200 ml 的去离子水后, 加热搅拌充分溶解。
3. 加入 180 ml 的甘油(Glycerol)后, 使用 2 M NaOH 调节 pH 值至 7.0。
4. 用去离子水定容至 500 ml 后, 室温保存。

6x Loading Buffer (RNA 电泳用)

组份浓度

10 mM	EDTA
50% (V/V)	Glycerol
0.25% (WV)	Xylene Cyanol FF
0.25% (WV)	Bromophenol Blue

配制量 10 ml

配制方法

1. 称量下列试剂, 置于 500 ml 烧杯中。

0.5 M EDTA (pH 8.0)	200 μl
Bromophenol Blue	25 mg
Xylene Cyanol FF	25 mg

2. 向烧杯中加入约 4 ml 的 DPEC 处理水后, 加热搅拌充分溶解。
3. 加入 5 ml 的甘油(Glycerol)后, 充分混匀。
4. 用 DPEC 处理水定容至 10 ml 后, 室温保存。



20xSSC

组份浓度 3.0 M NaCl, 0.3 M 柠檬酸钠

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

NaCl	175.3 g
柠檬酸钠 · 2H ₂ O	88.2 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 14 M HCl，调节 pH 值至 7.0 后，加去离子水将溶液定容至 1 L。
4. 高温高压灭菌后，室温保存。

20x SSPE Buffer

组份浓度 3.0 M NaCl, 0.2 M NaH₂PO₄, 0.02 M EDTA

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

NaCl	175.3 g
NaH ₂ PO ₄	27.6 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	7.4 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 加 NaOH 调节 pH 值至 7.4 (约 6.5 ml 的 10 M NaOH)。
4. 加去离子水将溶液定容至 1 L。
5. 高温高压灭菌后，室温保存。

50x Denhardt' s 溶液

组份浓度

1% (W/V)	Ficoll 400
1% (W/V)	Plynyrrolidone
1% (W/V)	BSA

配制量 500 ml

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 500 ml 烧杯中。

Ficoll 400	5 g
Plynyrrolidone	5 g
BSA	5 g

2. 加去离子水约 400 ml，充分搅拌溶解。
3. 加去离子水将溶液定容至 500 ml。
4. 用 0.45 μm 滤器过滤后，分装成每份 25 ml。
5. -20℃ 保存。

0.5 mM 磷酸盐 Buffer

组份浓度 0.5 M Na₂HPO₄

配制量 1 L

配制方法

1. 称量 134 g Na₂HPO₄ · 7H₂O 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. 加入 85% 的 H₃PO₄ (浓磷酸) 调节溶液 pH 值至 7.2。
4. 加去离子水定容至 1 L。
5. 高温高压灭菌后，室温保存。

Salmon DNA (鲤鱼精 DNA)

组份浓度 10 mg/ml Salmon DNA

配制量约 100 ml

配制方法

1. 称取鲤鱼精 DNA 2 g 置于 500 ml 烧杯中，加入约 200 ml 的 TE Buffer。
2. 用磁力搅拌器室温搅拌 2-4 小时，溶解后加入 4 ml 的 5 M NaCl，使其终浓度为 0.1 M。
3. 用苯酚和苯酚/氯仿各抽提 1 次。
4. 回收水相溶液后，使用 17 号皮下注射针头快速吸打溶液约 20 次，以切断 DNA。
5. 加入 2 倍体积的预冷乙醇进行乙醇沉淀。
6. 真心回收 DNA 后，溶解于 100 ml 的去离子水中，测定溶液的 OD₂₆₀ 值。
7. 计算溶液的 DNA 浓度后，稀释 DNA 溶液至 10 mg/ml。
8. 煮沸 10 分钟后，分装成小份(1 ml/份)。-20℃ 保存。
9. 使用前在沸水浴中加热 5 分钟后，迅速冰浴冷却。

DNA 变性缓冲液

组份浓度 1.5 M NaCl, 0.5 M NaOH

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

NaCl	87.7 g
NaOH	20 g

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 加去离子水将溶液定容至 1 L 室温保存。

预杂交液/杂交液(DNA 杂交用)

组份浓度

6x	ssc (或 SSPE)
5x	Denhardt' s
0.5% (W/V)	SDS
100 ug/ml	Salmon DNA

配制量 100 ml

配制方法

1. 称量下列试剂，置于 200 ml 烧杯中。

20xSSC (或 SSPE)	30 ml
50x Denhardt' s	10 ml
10% SDS	5 ml
10 mg/ml Salmon DNA	1 ml
dH ₂ O	54 ml

2. 充分混匀后, 使用 045 μm 滤器滤去杂质后使用。

预杂交液/杂交液(INA 杂交用)

6x	ssc (或 SSPE)
5x	Denhardt' s
0.5% (W/V)	SDS
100 ug/ml	Salmon DNA
50% (V/V)	Formamide

配制量 100 ml

配制方法

1. 称量下列试剂, 置于 200 ml 烧杯中。

20xSSC (或 SSPE)	30 ml
50x Denhardt' s	10 ml
10% SDS	5 ml
10 mg/ml Salmon DNA	1 ml
Formamide	50ml
dH ₂ O	4 ml

2. 充分混匀后, 使用 045 μm 滤器滤去杂质后使用。

膜转移缓冲液(Westen 杂交用)

组份浓度 39 mM Glycine, 48 mM Tris, 0.037% (W/V) SDS, 20% (V/V) 甲醇

配制量 1 L

配制方法

1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Glycine	2.9 g
Tris	5.8 g
SDS	0.37 g

2. 向烧杯中加入约 600 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 800 ml 后, 加入 200 ml 的甲醇。

4. 室温保存。

TBST Buffer (Western 杂交膜清洗液)

组份浓度 20 mM Tris-HCL, 150 mM NaCl, 0.05% (V/V) Tween 20

配制量 1L

配制方法

1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

NaCl	8.8 g
------	-------

1 M Tris-HCl (pH8.0)	20 ml
----------------------	-------

2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 加入 0.5 ml Tween 20 后充分混匀。

4. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后, 4℃ 保存。

封闭缓冲液(Western 杂交用)

组份浓度 5% (W/V) 脱脂奶粉/TBST Buffer

配制量 100 ml

配制方法

1. 称量 5 g 脱脂奶粉加入到 100 ml 的 TBST Buffer 中, 充分搅拌溶解。

2. 4℃ 保存待用(本封闭液应该现配现用)。



Ampicilin (100 mg/ml)

组份浓度 100 mg/ml Ampicilin

配制量 50 ml

配制方法

1. 称量 5g Ampicilin 置于 50 ml 离心管中。

2. 加入 40ml 灭菌水, 充分混合溶解后, 定容至 50 ml。

3. 用 0.22um 滤器过滤除菌。

4. 小份分装(1ml/份)后, -20℃ 保存。

IPTG (24mg/ml)

组份浓度 24 mg/ml IPTG

配制量 50 ml

配制方法

1. 称量 1.2g IPTG 置于 50 ml 离心管中。

2. 加入 40ml 灭菌水, 充分混合溶解后, 定容至 50 ml。

3. 用 0.22um 滤器过滤除菌。

4. 小份分装(1ml/份)后, -20℃ 保存。

X- Gal (20 mg/ml)

组份浓度 20 mg/ml X-Gal

配制量 50 ml

配制方法

1. 称量 1 g X-Gal 置于 50 ml 离心管中。

2. 加入 40 ml DMF (二甲基甲酰胺), 充分混合溶解后, 定容至 50 ml。

3. 小份分装(1 m/份)后, -20℃避光保存。

LB 培养基

组份浓度

1% (W/V)	Trptone
0.5%(W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NaCl

配制量 1L

配制方法

1. 称取下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Trptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g

2. 加入约 800 ml 的离子水, 充分搅拌溶解。

3. 滴加 5 M NaOH (约 0.2 ml), 调节 pH 值至 7.0。

4. 加去离子水将培养基定容至 1 L。

5. 高温高压灭菌后, 4℃保存。

LB/Amp 培养基

组份浓度

1% (W/V)	Trptone
0.5%(W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NaCl
0.1 mg/ml	Ampicilin

配制量 1L

配制方法

Trptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g

2. 加入约 800 ml 的离子水, 充分搅拌溶解。

3. 滴加 5 M NaOH (约 0.2 ml), 调节 pH 值至 7.0。

4. 加去离子水将培养基定容至 1 L。

5. 高温高压灭菌后,

6. 加入 1 ml Ampicilin (100 mg/ml) 后均匀混合。4℃保存。

TB 培养基

组份浓度

1.2% (W/V)	Trptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V)	Glycerol
17 mM	KH ₂ PO ₄
72 mM	K ₂ HPO ₄

配制量 1L

配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液(0.17 M KH₂PO₄, 0.72 M K₂HPO₄) 100 ml。溶解 2.31 g KH₂PO₄ 和 12.54 g K₂HPO₄ 于 90 ml 的去离子水中, 搅拌溶解后, 加去离子水定容至 100 ml, 高温高压灭菌。

2. 称取下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Trptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约 800ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

4. 加去离子水将培养基定容至 1 L 后, 高温高压灭菌。

5. 待溶液冷却至 60℃以下时, 加入 100 ml 的上述灭菌磷酸盐缓冲液。

6. 4℃保存。

TB/Amp 培养基

组份浓度

1.2% (W/V)	Trptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V)	Glycerol
17 mM	KH ₂ PO ₄
72 mM	K ₂ HPO ₄
0.1 mg/ml	Ampicilin

配制量 1 L

配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液(0.17 M KHPO₄, 0.72 M K₂HPO₄) 100 ml, 溶解 2.31 g KH₂PO₄ 和 12.54 g K₂HPO₄ 于 90 ml 的去离子水中, 搅拌溶解后, 加去离子水定容至 100 ml., 高温高压灭菌。

2. 称取下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Trptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

4. 加去离子水将培养基定容至 1 L 后, 高温高压灭菌。

5. 待溶液冷却至 60℃以下时, 加入 100 ml 的上述灭菌磷酸盐缓冲液和 1 ml 的 Ampicilin (100 mg/ml)。

6. 均匀混合后 4℃保存。

SOB 培养基

组份浓度

2% (W/V)	Trptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.05% (V/V)	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgCl ₂

配制量 1L

配制方法

1. 配制 250 mM KCl 溶液。

在 90 ml 的去离子水中溶解 1.86 KCl 后，定容至 100 ml

2. 配制 2 M MgCl₂ 溶液。

在 90 ml 的去离子水中溶解 19 g MgCl₂ 后，定容至 100 ml，高温高压灭菌。

3. 称取下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Trptone	20 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	0.5 g

4. 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
5. 量取 10 ml 250 mM KCl 溶液，加入到烧杯中。
6. 滴 5M NaOH 溶液(约 0.2 ml)，调节 pH 值至 7.0。
7. 加入去离子水将培养基定容至 1 L。
8. 高温高压灭菌后，4℃ 保存。
9. 使用前加入 5 ml 灭菌的 2 M MgCl₂ 溶液。

SOC 培养基

组份浓度

2% (W/V)	Trptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.05% (V/V)	NaCl
2.5 mM	KCl
10 mM	MgCl ₂
20 mM	葡萄糖

配制量 100 ml

配制方法

1. 配制 1 M 葡萄糖溶液。

将 18 g 葡萄糖溶于 900 ml 去离子水中，充分溶解后定容至 100 ml。用 0.22 μm 滤器过滤除菌。

2. 向 100 ml SOB 培养基中加入除菌的 1 M 葡萄糖溶液 2 ml，均匀混合。
3. 4℃ 保存。

2x YT 培养基

组份浓度

1.6% (W/V)	Trptone
1% (W/V)	Yeast Extract
0.5% (W/V)	NaCl

配制量 1 L

配制方法

1. 称取下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Trptone	20 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	0.5 g

2. 加入的 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加 5 N NaOH 调节 pH 值至 7.0。
4. 加入去离子水将培养基定容至 1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃ 保存。

Φ bx broth

组份浓度

2% (W/V)	Trptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.5% (W/V)	MgSO ₄ · 7H ₂ O

配制量 1 L

配制方法

1. 称取下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Trptone	20 g
Yeast Extract	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5 g

2. 加入约 800 ml 的去离子水。充分搅拌溶解。
3. 滴加 1M KOH，调节 pH 值至 7.5。
4. 加入去离子水将培养基定容至 1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃ 保存。

NZCYM 培养基

组份浓度

0.5% (W/V)	Yeast Extract
0.1% (W/V)	Casamino Acid
1% (W/V)	NZ 胺
0.5% (W/V)	NaCl
0.2% (W/V)	MgSO ₄ · 7H ₂ O

配制量 1 L

配制方法

1. 称取下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Yeast Extract	5 g
Casamino Acid	1 g
NZ 胺	10 g
NaCl	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2 g

2. 加入约 800 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。
3. 滴加 5 M NaOH (约 0.2 ml)，调节 pH 值至 7.0。
4. 加入去离子水将培养基定容至 1 L。
5. 高温高压灭菌后，4℃ 保存。

NZYM 培养基

组份浓度

0.5% (W/V)	Yeast Extract
1% (W/V)	NZ 胺
0.5 (W/V)	NaCl
0.2 (W/V)	MgSO ₄ · 7H ₂ O

配制方法

NZYM 培养基除不含 Casamio Acid (酪蛋白氨基酸) 外, 其他成份与 NZCYM 培养基相同。

NZM 培养基

组份浓度

1% (W/V)	NZ 胺
0.5 (W/V)	NaCl
0.2 (W/V)	MgSO ₄ · 7H ₂ O

配制方法

NZM 培养基除不含 Yeast Extract (酵母提取物) 外, 其他成份与 NZYM 培养基相同。

一般固体培养基的配制

配制方法

1. 按照液体培养基配方准备好液体培养基, 在高温高压灭菌前, 加入下列试剂中的一种。

Agar (琼脂; 铺制平板用)	15 g/L
Agar (琼脂; 配制顶层琼脂用)	7 g/L
Agarose (琼脂糖; 铺制平板用)	15 g/L
Agarose (琼脂糖; 配制顶层琼脂用)	7 g/L

2. 高温高压灭菌后, 戴上手套取出培养基, 摇动容器使琼脂或琼脂糖充分混匀(此时培养基温度很高, 小心烫伤)。

3. 待培养基冷却至 50 ~ 60℃ 时, 加入热不稳定物质(如抗生素等), 摇动容器充分混匀。

4. 铺制平板(30~35 ml 培养基/90 mm 培养皿)。

LB/Amp/X- Gal/IPTG 平板培养基

组份浓度

1% (W/V)	Tryptone
0.5% (W/V)	Yeast Extract
1% (W/V))	NaCl
0.1 mg/ml	Ampicilin
0.024 mg/ml	IPTG
0.04 mg/ml	X-Gal
1.5% (W/V)	Agar

配制量 1L

配制方法

1. 称取下列试剂, 置于 1L 烧杯中。

Trptone	10 g
Yeast Extract	5 g
NaCl	10 g

2. 加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

3. 滴加 5M NaOH (约 0.2 ml) 调节 pH 值至 7.0。

4. 加去离子水将培养基定容至 1L 后, 加入 15 g Aga。

5. 高温高压灭菌后, 冷却至 60℃ 左右。

6. 加 1 ml Ampicilin (100mg/ml)、1ml IPTG(24mg/ml)、2ml X-Gal (20 mg/ml) 后均匀混合。

7. 铺制平板(30~35 ml 培养基/90 mm 培养皿)。

8. 4℃ 避光保存。

TB/Amp/X- Gal/PTG 平板培养基

组份浓度

1.2% (W/V)	Tryptone
2.4% (W/V)	Yeast Extract
0.4% (V/V))	Glycerol
17 mM	KH ₂ PO ₄
72 mM	K ₂ HPO ₄
0.1 mg/ml	Ampicilin
0.024 mg/ml	IPTG
0.04 mg/ml	X-Gal
1.5% (W/V)	Agar

配制量 1L

配制方法

1. 配制磷酸盐缓冲液(0.17 M KH₂PO₄, 0.72 M K₂HPO₄) 100 ml。溶解 2.31 g KH₂PO₄ 和 12.54 g K₂HPO₄ 于 90 ml 的去离子水中, 搅拌溶解后, 加去离子水定容至 100 ml, 高温高压灭菌。

2. 称取下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Trptone	12 g
Yeast Extract	24 g
Glycerol	4 ml

3. 加入约 800 ml 的去离子水, 充分搅拌溶解。

4. 加去离子水将培养基定容至 1 L 后, 加入 15 g Agar。

5. 高温高压灭菌后, 冷却至 60℃ 左右。

6. 加入 100 ml 的上述灭菌磷酸盐缓冲液、1 ml Ampicilin (100 mg/ml)、1 ml IPTG (24 mg/m)、2 ml X-Gal (20 mg/ml) 后均匀混合。

7. 铺制平板(30~35 ml 培养基/90 mm 培养皿)。

8. 4℃ 避光保存。