

常见实验用溶液的配制方法

一、常用溶液

1mol/L 亚精胺 (Spermidine) : 溶解 2.55g 亚精胺于足量的水中, 使终体积为 10ml。分装成小份, 贮存于-20℃。

1mol/L 精胺 (Spermine) : 溶解 3.48g 精胺于足量的水中, 使终体积为 10ml。分装成小份, 贮存于-20℃。

10mol/L 乙酸胺 (ammonium acetate): 将 77.1g 乙酸胺溶解于水中, 加水定容至 1L 后, 用 0.22um 孔径的滤膜过滤除菌。

10mg/ml 牛血清蛋白(BSA): 加 100mg 的牛血清蛋白(组分 V 或分子生物学试剂级, 无 DNA 酶) 于 9.5ml 水中(为减少变性, 须将蛋白加入水中, 而不是将水加入蛋白), 盖好盖后, 轻轻摇动, 直至牛血清蛋白完全溶解为止。不要涡旋混合。加水定容到 10ml, 然后分装成小份, 贮存于-20℃。

1mol/L 二硫苏糖醇 (DTT): 在二硫苏糖醇 5g 的原装瓶中加 32.4ml 水, 分成小份贮存于-20℃。或转移 100mg 的二硫苏糖醇至微量离心管, 加 0.65ml 的水配制成 1mol/L 二硫苏糖醇溶液。

8mol/L 乙酸钾 (potassium acetate) : 溶解 78.5g 乙酸钾于足量的水中, 加水定容到 100ml。

1mol/L 氯化钾 (KCl) : 溶解 7.46g 氯化钾于足量的水中, 加水定容到 100ml。

3mol/L 乙酸钠 (sodium acetate) : 溶解 40.8g 的三水乙酸钠于约 90ml 水中, 用冰乙酸调溶液的 pH 至 5.2, 再加水定容到 100ml。

0.5mol/L EDTA: 配制等摩尔的 Na₂EDTA 和 NaOH 溶液 (0.5mol/L), 混合后形成 EDTA 的三钠盐。或称取 186.1g 的 Na₂EDTA 2H₂O 和 20g 的 NaOH, 并溶于水中, 定容至 1L。

1mol/L HEPES: 将 23.8gHEPES 溶于约 90ml 的水中, 用 NaOH 调 pH (6.8-8.2), 然后用水定容至 100ml。

1mol/L HCl: 加 8.6ml 的浓盐酸至 91.4ml 的水中。

25mg/ml IPGT: 溶解 250mg 的 IPGT (异丙基硫代- β -D-半乳糖苷) 于 10ml 水中, 分成小份贮存于-20℃。

1mol/L MgCl₂: 溶解 20.3g MgCl₂ 6H₂O 于足量的水中, 定容到 100ml。

100mmol/L PMSF: 溶解 174mg 的 PMSF (苯甲基磺酰氟) 于足量的异丙醇中, 定容到 10ml。分成小份并用铝箔将装液管包裹或贮存于-20℃。

20mg/ml 蛋白酶 K (proteinase K): 将 200mg 的蛋白酶 L 加入到 9.5ml 水中, 轻轻摇动, 直至蛋白酶 K 完全溶解。不要涡旋混合。加水定容到 10ml, 然后分装成小份, 贮存于-20℃。

10mg/ml Rnase(无 DNase)(DNase-free RNase): 溶解 10mg 的胰蛋白 RNA 酶于 1ml 的 10mmol/L 的乙酸钠水溶液中 (pH 5.0)。溶解后于水浴中煮沸 15min, 使 DNA 酶失活。用 1mol/L 的 Tris-HCl 调 pH 至 7.5, 于-20℃贮存。(配制过程中要戴手套)

5mol/L 氯化钠 (NaCl): 溶解 29.2g 氯化钠于足量的水中, 定容至 100ml。

10N 氢氧化钠 (NaOH): 溶解 400g 氢氧化钠颗粒于约 0.9L 水的烧杯中 (磁力搅拌器搅拌), 氢氧化钠完全溶解后用水定容至 1L。

10% SDS (十二烷基硫酸钠): 称取 100g SDS 慢慢转移到约含 0.9L 的水的烧杯中, 用磁力搅拌器搅拌直至完全溶解。用水定容至 1L。

2mol/L 山梨 (糖) 醇 (Sorbitol): 溶解 36.4g 山梨 (糖) 醇于足量水中使终体积为 100ml。

100% 三氯乙酸 (TCA): 在装有 500g TCA 的试剂瓶中加入 100ml 水, 用磁力搅拌器搅拌直至完全溶解。(稀释液应在临用前配制)

2.5% X-gal (5-溴-4-氯-3-吲哚- β -半乳糖苷): 溶解 25mg 的 X-gal 于 1ml 的二甲基甲酰胺 (DMF), 用铝箔包裹装液管, 贮存于-20℃。

100×Denhardt 试剂 (Denhardt's reagent)

成分及终浓度	配制 100ml 溶液各成分的用量
2% 聚蔗糖 (Ficoll, 400 型) 2% 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP-40) 2% BSA (组分 V) 水	2g 2g 2g 加水至总体积为 100ml

依照上表称取各组分，溶于水中定容。过滤除菌及杂质，分装成小份，贮存于-20℃。

10×标准 DNA 连接酶缓冲液（standard DNA ligase buffer）（粘端、平端连接）

成分及终浓度	配制 10ml 溶液各成分的用量
0.5mol/L Tris-HCl 100mmol/L MgCl ₂ 100mmol/L DTT 2mmol/L ATP 5mmol/L 盐酸亚精胺(可选) 0.5mg/ml BSA（组分 V）（可选） 水	5ml 1mol/L 贮液 1ml 1mol/L 贮液 1ml 1mol/L 贮液 200ul 100mmol/L 贮液 50ul 1 mmol/L 贮液 0.5ml 10 mg/mL 贮液 2.25ml

将配制好的缓冲液分装成小份，贮存于-20℃。100 mmol/L dNTP 溶液（dNTP solutions）可以购买到 100mmol/L 纯 dNTPs 贮液，-80℃可贮存至少 6 个月。

10mmol/L dNTP 混合液

成分及终浓度	配制 20ul 溶液各成分的用量
10mmol/L dATP 10mmol/L dCTP 10mmol/L dGTP 10mmol/L dTTP 水	2ul 100 mmol/L dATP 贮液 2ul 100 mmol/L dCTP 贮液 2ul 100 mmol/L dGTP 贮液 2ul 100 mmol/L dTTP 贮液 12ul

20% PEG 8000/2.5M NaCl

成分及终浓度	配制 10ml 溶液各成分的用量
质量浓度为 20% 聚乙二醇 2.5mol/L 氯化钠 水	20g 50ml 5 mol/L 氯化钠 或 14.6g 固体氯化钠 补足 100ml

加聚乙二醇于含有氯化钠的烧杯中，加水至终体积 100ml，用磁力搅拌器搅拌溶解。

20×SSC

成分及终浓度	配制 1L 溶液各成分的用量
--------	----------------

300mmol/L 柠檬酸三钠(二水)	88.2g 175.3g 补足 1L
3mol/L 氯化钠 水	

溶解柠檬酸三钠(二水)和氯化钠于约 0.9L 水中, 加几滴 10N NaOH 溶液调 pH 为 7.0, 用水补足体积至 1L。

DEPC(焦碳酸二乙酯)处理水 加 100ul DEPC 于 100ml 水中, 使 DEPC 的体积分数为 0.1%。在 37℃温浴至少 12h, 然后在 15 psi 条件下高压灭菌 20min, 以使残余的 DEPC 失活。DEPC 会与胺起反应, 不可用 DEPC 处理 Tris 缓冲液。

甲酰胺(deionized formamide) 直接购买或加 Dowex XG8 混合树脂于装有甲酰胺的玻璃烧杯中, 用磁力搅拌器轻轻搅拌 1h, 可去除甲酰胺中的离子。经 Whatman 1 号滤纸过滤除去树脂后分成小份, 充氮气于-80℃贮存(防止氧化)。

磷酸缓冲液(phosphate buffer) 按照下表所给定的体积, 混合 1 mol/L 的磷酸二氢钠(单碱)和 1mol/L 磷酸氢二钠(双碱)贮液, 获得所需 pH 的磷酸缓冲液。配制 1 mol/L 的磷酸二氢钠(NaH₂PO₄·H₂O)贮液: 溶解 138g 于足量水中, 使终体积为 1L; 1mol/L 磷酸氢二钠(Na₂HPO₄)贮液: 溶解 142g 于足量水中使终体积为 1L。

1mol/L 磷酸二氢钠 (ml)	1mol/L 磷酸氢二钠 (ml)	最终 pH 值
877 850 815 775 735 685	123 150 185 225 265 315	6.0 6.1 6.2 6.3
625 565 510 450 390 330	375 435 490 550 610 670	6.4 6.5 6.6 6.7
280	720	6.8 6.9 7.0 7.1
		7.2

TE (用于悬浮和贮存 DNA)

成分及终浓度	配制 100ml 溶液各成分的用量
10mmol/L Tris - HCl 1mmol/L EDTA 水	1ml 1mol/L Tris-HCl (pH7.4-8.0, 25℃) 200ul 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 98.8ml

Tris 缓冲液(Tris-HCl buffer) 将 121g 的 Tris 碱溶解于约 0.9L 水中, 再根据所要求的 pH (25℃下) 加一定量的浓盐酸(11.6N), 用水调整终体积至 1L。

浓盐酸的体积 (ml)	pH
8.6 14 21 28.5 38 46 56 66 71.3 76	9.0 8.8 8.6 8.4 8.2 8.0 7.8 7.6 7.4 7.2

二、电泳缓冲液、染料和凝胶加样液

电泳缓冲液

50×Tris-乙酸 (TAE) 缓冲液

成分及终浓度	配制 1L 溶液各成分的用量
2mol/L Tris 碱 1mol/L 乙酸 100 mmol/L EDTA 水	242g 57.1 ml 的冰乙酸(17.4 mol/L) 200ml 的 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 补足 1L

5×Tris-硼酸 (TBE) 缓冲液

成分及终浓度	配制 1L 溶液各成分的用量
445 mmol/L Tris 碱 445 mmol/L 硼酸盐 10 mmol/L EDTA 水	54g 27.5g 硼酸 20 ml 的 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 补足 1L

三、常用培养基

LB 培养基 将下列组分溶解在 0.9L 水中：

蛋白胨	10g
酵母提取物	5g
氯化钠	10g

如果需要用 1N NaOH (~1ml) 调整 pH 至 7.0 再补足水至 1L 注：琼脂平板需添加琼脂粉 12g/L, 上层琼脂平板添加琼脂粉 7g/L。

SOB 培养基 将下列组分溶解在 0.9L 水中：

蛋白胨	20g
酵母提取物	5g
氯化钠	0.5g
1 mol/L 氯化钾	2.5ml

用水补足体积到 1L。分成 100ml 的小份，高压灭菌。培养基冷却到室温后，再在每 100ml 的小份中加 1ml 灭过菌的 1mol/L 氯化镁。

SOC 培养基 成分、方法同 **SOB 培养基** 的配制，只是在培养基冷却到室温后，除了在每 100ml 的小份中加 1ml 灭过菌的 1mol/L 氯化镁外，再加 2ml 灭菌的 1mol/L 葡萄糖（18g 葡萄糖溶于足够水中，再用水补足到 100ml，用 0.22um 的滤膜过滤除菌）。

TB 培养基 将下列组分溶解在 0.9L 水中：

蛋白胨	12g
酵母提取物	24g
甘油	4ml

各组分溶解后高压灭菌。冷却到 60℃，再加 100ml 灭菌的 170mmol/L KH_2PO_4 /0.72 mol/L K_2HPO_4 的溶液（2.31g 的 KH_2PO_4 和 12.54g K_2HPO_4 溶在足量的水中，使终体积为 100ml。高压灭菌或用 0.22um 的滤膜过滤除菌）。

2×YT 培养基 将下列组分溶解在 0.9L 水中：

蛋白胨	16g
酵母提取物	10g
氯化钠	4ml

如果需要用 1N NaOH (~1ml) 调整 pH 至 7.0 再补足水至 1L。注：琼脂平板需添加琼脂粉 12g/L，上层琼脂平板添加琼脂粉 7g/L。

YPD 培养基 将下列组分溶解在 0.9L 水中：

蛋白胨	20g
-----	-----

酵母提取物	10g
葡萄糖	20g

用水补足体积为 1L 后，高压灭菌。建议在高压灭菌之前，对色氨酸营养缺陷型每升培养基添加 1.6g 色氨酸，因为 YPD 培养基是色氨酸限制型培养基。为了配制平板，需要在高压灭菌前加入 20g 琼脂粉。

四、常用抗生素

氨苄青霉素(ampicillin)(100mg/ml) 溶解 1g 氨苄青霉素钠盐于足量的水中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 25ug/ml~50ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

羧苄青霉素(carbenicillin)(50mg/ml) 溶解 0.5g 羧苄青霉素二钠盐于足量的水中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 25ug/ml~50ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

甲氧西林(methicillin)(100mg/ml) 溶解 1g 甲氧西林钠于足量的水中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 37.5ug/ml 终浓度与 100ug/ml 氨苄青霉素一起添加于生长培养基。

卡那霉素(kanamycin)(10mg/ml) 溶解 100mg 卡那霉素于足量的水中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 10ug/ml~50ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

氯霉素(chloramphenicol)(25mg/ml) 溶解 250mg 氯霉素于足量的无水乙醇中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 12.5ug/ml~25ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

链霉素(streptomycin)(50mg/ml) 溶解 0.5g 链霉素硫酸盐于足量的无水乙醇中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 10ug/ml~50ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

萘啶酮酸(nalidixic acid)(5mg/ml) 溶解 50mg 萘啶酮酸钠盐于足量的水中，最后定容至 10ml。分装成小份于-20℃贮存。常以 15ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。

四环素(tetracycline)(10mg/ml) 溶解 100mg 四环素盐酸盐于足量的水中，或者将无碱的四环素溶于无水乙醇，定容至 10ml。分装成小份用铝箔包裹装液管以免溶液见光，于-20℃贮存。常以 10ug/ml~50ug/ml 的终浓度添加于生长培养基。