



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-times.com.cn](http://www.real-times.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## 动物/细胞基因组 DNA 提取试剂盒

Ver.730477

| 货号         | 名称                 | 规格    |
|------------|--------------------|-------|
| RTG2402-01 | 动物/细胞基因组 DNA 提取试剂盒 | 50 次  |
| RTG2402-02 | 动物/细胞基因组 DNA 提取试剂盒 | 100 次 |

### ● 试剂盒内容及保存:

| 试剂盒组成              | RTG2402-01<br>(50 次) | RTG2402-02<br>(100 次) | 贮存方式 |
|--------------------|----------------------|-----------------------|------|
| 缓冲液 GA             | 15 ml                | 30 ml                 | 室温   |
| 缓冲液 GB             | 15 ml                | 30 ml                 | 室温   |
| 去蛋白液 GD (浓缩液)      | 18 ml                | 36 ml                 | 室温   |
| 漂洗液 PW (浓缩液)       | 25 ml                | 25ml                  | 室温   |
| 洗脱缓冲液 EB           | 15 ml                | 15 ml                 | 室温   |
| 蛋白酶 K (20 mg/ml)   | 1ml                  | 2×1ml                 | -20℃ |
| RNase A (10 mg/ml) | 0.5 ml               | 1 ml                  | -20℃ |
| 吸附柱 CG             | 50 个                 | 100 个                 | 室温   |
| 收集管 (2 ml)         | 50 个                 | 100 个                 | 室温   |
| 说明书                | 1 份                  | 1 份                   |      |

### ● 储存条件和效期:

本试剂盒在室温(25℃左右)干燥条件下,可保存 1 年;更长时间的保存可置于 2-8℃。2-8℃保存条件下,若溶液产生沉淀,应在使用前置于 37℃下溶解沉淀至溶液澄清后再使用。单独包装的蛋白酶 K 和 RNaseA 收到后最好按照需要分装成小管, -20℃保存。

### ● 产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,能提取多种细胞/组织中的基因组DNA。离心吸附柱可以高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

### ● 提取得率:

| 材料      | 提取量                                    | DNA 得量   |
|---------|--|----------|
| 动物细胞培养液 | 10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup> cells | 5-30 μg  |
| 动物组织    | 30 mg                                  | 10-30 μg |

## ● 准备工作:

1. 准备 55°C 和 70°C 水浴; 无水乙醇; 1.5ml 灭菌离心管。
2. 按照标签所示在去蛋白液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇, 混匀后盖紧瓶盖后室温贮存备用。
3. 每次使用前请检查缓冲液 GA, 缓冲液 GB 和去蛋白液 GD 是否有沉淀生成, 如果出现沉淀, 37°C 温浴至沉淀溶解后再使用。

## ● 操作步骤:

如非指出, 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

### 1. 处理材料:

- a. 培养细胞: 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液 (如用 PBS 缓冲液或类似缓冲液), 10,000 g 离心 1 分钟, 倒尽上清, 加入 200  $\mu$ l 缓冲液 GA, 振荡至彻底悬浮。
- b. 组织: 取约 30mg 动物组织 (脾组织用量应少于 10 mg) 加入到事先盛有 200 $\mu$ l 缓冲液 GA 的 1.5ml 离心管中, 用研磨杵彻底将组织研碎。

### 2. 加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K (20 mg/ml) 溶液。

- a. 提取细胞基因组时, 加入蛋白酶 K 混匀后, 55°C 放置 5-10 分钟。
- b. 提取组织基因组时, 加入蛋白酶 K 混匀后, 在 55°C 放置, 直至组织溶解。

**注: 不同组织裂解时间不同, 通常需 1-3 小时即可完成 (鼠尾需要消化过夜), 期间间歇颠倒混匀样品。**

### 3. 加入 10 $\mu$ l RNaseA (10 mg/ml) 溶液, 混匀后室温放置 2 分钟。

### 4. 加入 220 $\mu$ l 缓冲液 GB, 充分颠倒混匀, 70°C 放置 10 分钟, 溶液应变清亮, 简短离心以去除管盖内壁的水珠。

**注: 加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀, 一般 70°C 放置一段时间后会消失。如溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 会影响 DNA 的纯度和得率, 而且可能导致步骤 6 中离心柱堵塞。**

### 5. 加入 220 $\mu$ l 无水乙醇, 颠倒混匀, 简短离心以去除管盖内壁的水珠。

**注: 加入乙醇后会产生絮状沉淀, 可用枪头反复抽打 1-2 次将沉淀弄碎后再上柱。如果絮状物未做处理, 容易导致步骤 6 中离心柱的堵塞。**

### 6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱 CG 中 (吸附柱放入收集管中), 11,000g 离心 2 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放回收集管中。

**注: 如果出现吸附柱堵塞现象, 可将离心时间延长到 5 分钟。**

### 7. 向吸附柱 CG 中加入 500 $\mu$ l 去蛋白液 GD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 11,000g 离心 1 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放入收集管中。

### 8. 向吸附柱 CG 中加入 700 $\mu$ l 漂洗液 PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 11,000g 离心 1 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放入收集管中。

### 9. 向吸附柱 CG 中加入 500 $\mu$ l 漂洗液 PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 11,000g 离心 1 分钟, 倒掉废液。

### 10. 将吸附柱 CG 放回废液收集管中, 11,000g 离心 2 分钟。

**注: 此步骤非常重要, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。**

### 11. 将吸附柱 CG 转入一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 100 $\mu$ l 经 70°C 水浴预热的洗脱缓冲液 EB, 室温放置 2 分钟, 11,000g 离心 2 分钟。

**注: 1. 洗脱缓冲液体积最好不少于 100  $\mu$ l, 体积小影响回收效率。**

**2. 洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。**

### 12. DNA 产物 -20°C 保存。