



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 (50 次)	RTG2402-02 (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。