

动物组织、细胞 DNA/RNA 提取

微量说明书

编号	ZD-TG-71-50
微量离心柱	50 个/包×2
1.5 ml 离心管	50 个/包×2
溶液 RB	30ml/瓶×1
溶液 W1	20ml/瓶×1
溶液 RW2	12ml/瓶×1
溶液 TE	3ml/瓶×1
RNase-Free 水	4ml/瓶×1
说明书	1 份

存储和稳定性

室温避光保存。

保质期：24 个月。

产品介绍

产品适用于动物组织或细胞 gDNA 及总 RNA 的提取纯化。产品操作简单、快速，可同时分别纯化基因组 DNA 和 RNA，获得的总 RNA 纯度很高，不含 RNA 酶，可用于 NORTH ERN BLOT, RT-PCR, MicroArray 和 Real-Time PCR。在基因表达的定量研究中，它的优点更为突出。

使用前说明

- 阅读说明书。
需自备的试剂耗材有：无水乙醇、合适规格的离心管等。
处理组织样品时需自备合适规格的匀浆器用于匀浆组织或者自备液氮于研钵中研碎组织。提取血液中白细胞时需自备红细胞裂解液。
- 首次使用前，分别向溶液 W1 和 RW2 瓶中按各自标签要求加入无水乙醇（自备），摇匀后标记备用。
- 盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集步骤“8”与“14”的洗脱液。
- 离心均室温进行。

操作步骤

1. 样本处理：

1.1 组织

可选用方法 1（需用匀浆器）或方法 2（需用液氮及研钵）。

方法1：称取新鲜-80℃冷冻保存的动物组织3~5mg，加溶液RB 300μl 匀浆。将匀浆全部移入离心管（自备）中，至步骤“2”。

方法2：将组织块用液氮于研钵中快速研磨成粉末。取3~5mg粉末于离心管（自备）中，加入溶液RB 300μl，漩涡混匀30sec。至步骤“2”。

1.2 培养细胞（使用少于 1×10^5 个细胞）：

1.2.1 收集细胞：

a. 悬浮细胞：将培养液 $800 \times g$ (3000rpm) 离心5min。弃上清，至1.2.2。

b. 贴壁细胞：（培养面积小于 3cm^2 时）完全吸除培养液，至1.2.2。
（培养面积大于 3cm^2 时）胰酶消化分离细胞后将细胞悬液 $800 \times g$ (3000rpm) 离心5min。弃上清，至1.2.2。

1.2.2 加入溶液 RB 300 μl ，漩涡混合或用枪头吹打至溶液不再粘稠(提高得率，重要)。将液体全部移入离心管（自备）中，至步骤“2”。

1.3 白细胞

1.3.1 吸取全血 100 μl 于离心管（自备）中，加入3倍体积的红细胞裂解液(自备，成分为5mM MgCl_2 ，10mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 7.0)，充分混匀。

1.3.2 于 $800 \times g$ (3000rpm) 离心5min。弃上清液，勿搅动已沉淀白细胞。

1.3.3 加入溶液 RB 300 μl 。漩涡混合或用枪头吹打至溶液不再粘稠(提高得率，重要)。至步骤“2”。

2. 最高转速（ $12000 \times g$ 以上）离心 5min。

DNA 提取

3. 将上清液移入套有收集管的微量离心柱中， $8000 \times g$ 离心 2min（DNA 结合在柱上）。取出离心柱，将收集管中液体全部移入新的离心管（自备）中，按步骤“9~14”提取 RNA。将离心柱放回原收集管。

注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。

4. 向离心柱中加入200 μl 溶液W1。 $8000 \times g$ 离心1min。

5. 向离心柱中加入200 μl 溶液RW2。 $8000 \times g$ 离心1min，弃去收集管中废液，将离心柱放回。

6. 重复步骤“5”一次。

7. $12000 \times g$ 离心2min。

8. 将离心柱取出后放入新的1.5ml离心管（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）中。向柱中央加入5~20 μl 溶液TE，室温放置2~3min。
 $12000 \times g$ 离心1min。DNA溶液即收集在离心管中。

注：可选用纯水（自备）做洗脱液，纯水pH值需不低于7，且DNA产物应于 -20°C 保存以防降解。

总RNA提取

9. 向在步骤“3”中收集的液体中加入1/2体积的无水乙醇（例如：管中有300 μl 液体，则加入150 μl 无水乙醇），充分混匀。

注：若混匀后液体浑浊或出现沉淀时，最高转速（ $12000 \times g$ 以上）离心5min，取上清液至下一步。

10. 将液体移入新的套有收集管的微量离心柱中， $8000 \times g$ 离心2min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

11. 向离心柱中加入200 μl 溶液RW2。 $8000 \times g$ 离心1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

12. 重复步骤“11”一次。

13. $12000 \times g$ 离心2min。

14. 将离心柱取出后放入新的1.5ml离心管中（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）。向柱中央加入5~20 μl RNase-Free水，室温放置2~3min。 $12000 \times g$ 离心1min。RNA溶液即收集在离心管中。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133