

# 组织/细胞 gDNA 提取

## 微量说明书

编号 组分	ZD-TG-04-50	ZD-TG-04-100	ZD-TG-04-200
微量离心柱	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
1.5 ml 离心管	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
溶液 GK	12ml/瓶×1	30ml/瓶×1	60ml/瓶×1
溶液 GH	12ml/瓶×1	30ml/瓶×1	60ml/瓶×1
溶液 W1	8ml/瓶×1	20ml/瓶×1	40ml/瓶×1
溶液 W2	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1	24ml/瓶×1
Proteinase K	2mg/管×1	2mg/管×1	2mg/管×2
RNase A	2mg/管×1	2mg/管×1	2mg/管×2
溶液 TE	6ml/瓶×1	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1
说明书	1 份	1 份	1 份

### ○产品介绍

产品适用于从动物组织样本和细胞中提取 DNA。产品采用独特的试剂配方以及特别制造的固相吸附介质，在缓冲液作用下，DNA 从样本中快速释放，吸附于固相基质，洗脱后即可获得高纯度 DNA。测试表明，提取的 DNA 纯度、得率及在 PCR 程序和内切酶反应中效率超过国际知名品牌产品。

### ○存储和稳定性

- ◇ Proteinase K（固体）和 RNase A（固体）置于 2~8℃ 长期保存。其余组分储存在环境温度 -40℃~40℃，相对湿度不大于 75%，无腐蚀性气体的避光处。
- ◇ 保质期：12 个月。

### ○使用前准备

- ◇ 阅读说明书，备好必需试剂和仪器。  
自备试剂、耗材：无水乙醇、纯水、合适规格离心管。  
盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的 DNA 溶液。
- ◇ 首次使用前，分别向溶液 W1 和 W2 瓶中按各自瓶上标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。  
每管 Proteinase K 和 RNase A 首次使用前分别用 550 μl 纯水完全溶解。如酶溶解后未短时间内用完，应分别按每次用量将酶液分装成小份并 -20℃ 保存备用，避免反复冻融使酶活力下降。
- ◇ 离心均室温进行。

### ○操作说明

#### 1. 不同样本处理

##### 1.1 组织：

将组织切碎（尽可能小），取 5~10mg 于 1.5ml 离心管中，加入溶液 GK 150μl、Proteinase K 5μl 及 RNase A 5μl，充分混匀。56℃ 温育，期间缓慢颠倒混摇（重要！可大幅提升消化速度。用自动混摇仪消化效果更佳）至组织被完全消化（2~3 小时或者过夜），至步骤“2”。

注：组织不能过量，否则影响得率。

##### 1.2 培养细胞（使用少于 $2 \times 10^6$ 个细胞）及含组织细胞的体液

### 1.2.1 收集细胞:

a. 悬浮细胞液及含组织细胞的体液: 将培养液或体液 800×g 离心 5min。弃去全部上清, 至 1.2.2。

b. 贴壁细胞: (培养面积小于 1cm<sup>2</sup>时) 完全吸除培养液, 至 1.2.2。  
(培养面积大于 1cm<sup>2</sup>时) 胰酶消化分离细胞后收集细胞悬液, 800×g 离心 5min。弃去全部上清, 至 1.2.2。

1.2.2 在细胞中加入溶液 GK 150μl、Proteinase K 5μl 及 RNase A 5μl, 充分混匀。将液体移入 1.5ml 离心管中, 56℃温育 15~30min。至步骤“2”。

### 1.3 牛奶

取 500μl 鲜牛奶, 8000rpm 离心 5min。弃去上清及漂浮的奶油, 用干净棉签除去残留在管壁的白色油脂。向沉淀中加入溶液 GK 150μl、5μl Proteinase K 及 5μl RNase A, 充分混匀。56℃温育 15~30min。至步骤“2”。

2. 最高转速 (12000×g 以上) 离心 2min。取上清液 (观察如果管底没有沉淀则不用取上清液), 加入等体积的溶液 GH 及无水乙醇 (即加入的溶液 GH、乙醇与上清液体积比为 1:1:1), 充分混匀。
3. 将液体全部移入套有收集管的微量离心柱中, 8000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液, 将离心柱放回收集管中。  
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 200μl 溶液 W1, 8000×g 离心 1min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
5. 向离心柱中加入 200μl 溶液 W2, 8000×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×g 离心 2min。
8. 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 5~20μl 溶液 TE, 室温放置 2~3min, 12000×g 离心 1min。DNA 溶液即收集在 1.5ml 离心管中。  
注意! 吸取 DNA 溶液用于后续分析及实验时小心吸取上部液体即可, 不可振摇或吸打混匀液体。这会吸入底部已沉淀的从柱子上脱落的微小颗粒, 可能造成后续实验仪器堵塞。  
注): 为提高得率, 可向离心柱中央再加入 5~20μl 溶液 TE, 室温放置后离心收集合并 DNA 溶液。注意这会增大溶液体积并降低 DNA 浓度。也可将离心收集的 DNA 溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min, 12000×g 离心 1min 收集液体, 这可提升 DNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页: <http://www.genepure.com>

电话: 4008780133