

## 动物组织、细胞 DNA/RNA 提取试剂盒-小量说明书

### 产品介绍

Takegene® 动物组织、细胞 DNA/RNA 提取试剂盒用于同时提取纯化动物组织、细胞基因组 DNA 及总 RNA。它的特点是操作简单、快速, 而且获得的总 RNA 纯度很高, 不含 RNA 酶。因此远比传统的有机溶剂抽提沉淀方法获得的 RNA 稳定。这一试剂盒使 RNA 提取工作变得非常容易。得到的总 RNA 可以用于 NORTHERN BLOT, RT-PCR, MicroArray 和 Real-Time PCR, 并且此试剂盒可同时纯化基因组 DNA。在基因表达的定量研究中, 它的优点更为突出。

### 存储和稳定性

蛋白酶 K (固体) 2~8 °C 保存, 试剂盒其他试剂室温避光保存。

试剂盒保质期为 12 个月。

### 试剂盒组成

Catalog Number	ZD-TG-72-50	ZD-TG-72-100	ZD-TG-72-200
离心柱	50 个/包×2	50 个/包×4	50 个/包×8
1.5 ml 离心管	50 个/包×2	50 个/包×4	50 个/包×8
蛋白酶 K	10 mg/管×1	10 mg/管×2	10 mg/管×4
溶液 RB	30 ml/瓶×1	30 ml/瓶×2	30 ml/瓶×4
溶液 W1	24 ml/瓶×1	48 ml/瓶×1	48 ml/瓶×2
溶液 RW2	12 ml/瓶×2	24 ml/瓶×2	24 ml/瓶×4
溶液 TE	6 ml/瓶×1	12 ml/瓶×1	12 ml/瓶×2
RNase-Free 水	6 ml/瓶×1	12 ml/瓶×1	12 ml/瓶×2
说明书	1 份	1 份	1 份

### 使用前准备

- 准备好所有必须的试剂和仪器, 仔细阅读说明书。全部离心都在室温进行。
- 每瓶溶液 W1、RW2 在首次使用前按各自瓶子标签标示量加入无水乙醇并摇匀。
- 每管蛋白酶 K 用 0.55 ml 纯水溶解后使用。如未立即用完, 蛋白酶 K 应按每次使用量分装成小份后 -20°C 保存备用, 避免反复冻融造成酶活力下降。
- 每个离心柱的最大 DNA 吸附量 ≥ 50 µg, 最大 RNA 吸附量 ≥ 100 µg。

## 操作步骤

### 1. 不同组织、细胞的消化:

1.1 动物组织: 称取 30~50 mg 新鲜/-80 °C 冷冻的动物组织, 加入 500 µl 溶液 RB 后匀浆。至步骤“2”。

注: 也可选用液氮快速研磨成粉末, 不待其溶化立即加入500 µl 溶液RB, 涡旋振荡混匀。

1.2 培养细胞 (使用少于  $2 \times 10^6$  个细胞):

#### ① 准备细胞

a. 悬浮细胞: 将培养液300 g 离心5 min。丢弃上清液。

b. 贴壁细胞: 吸掉培养液。注: 细胞数量过多请先消化后取少于 $2 \times 10^6$ 个细胞按悬浮细胞方法处理。

② 加入500 µl溶液RB, 旋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“3”。

### 1.3 白细胞

① 吸取1~3 ml全血于15 ml离心管, 加入3倍体积的红细胞裂解液 (5mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 7.0), 充分混匀。

② 4 °C, 3000 rpm(400g) 离心5 min。小心吸去上清液。注意勿搅动沉淀的白细胞。

③ 加入500 µl 溶液RB。旋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”。

注: 选用: 如要获得更多核酸, 请将1.1、1.2、1.3中加入的溶液RB减半, 加入200 µl去离子水、10 µl蛋白酶K后混匀, 37 °C保温10~30 min。然后动物组织、白细胞至步骤“2”, 培养细胞至步骤“3”。

2. 将溶液转移至离心管中, 最高转速 (14000 g) 离心 5 min。

## DNA 提取

3. 将上清液转入离心柱中, 最高转速 (14000 g) 离心 2 min (DNA 吸附在柱上)。取出离心柱 (DNA 已吸附在离心柱上), 将收集管中的溶液移入另一新离心管, 按步骤“8~13”提取 RNA。将已经吸附了 DNA 的离心柱放回收集管中。

4. 向离心柱中加入550 µl 溶液W1; 最高转速 (14000 g) 离心1 min, 取出离心柱并弃去收集管中溶液, 将离心柱放回原收集管中。

5. 向离心柱中加入550 µl 溶液RW2。最高转速 (14000 g) 离心10 s, 取出离心柱并弃去收集管中溶液, 将离心柱放回原收集管中。

6. 最高转速 (14000 g) 离心2 min。

7. 将离心柱取出, 并放入1.5 ml离心管中。向柱中加入50~100 µl预热到50~60 °C的溶液TE, 静置2~3 min。最高转速 (14000 g) 离心1 min。DNA溶液即从离心柱上洗脱并收集在离心管中。

## RNA 提取

8. 向过了第一个离心柱后的溶液中 (见步骤“3”) 加入其1/2体积的无水乙醇 (例如: 管中原有液体体积为 500 µl, 则加入250 µl 无水乙醇)。混匀。

9. 将液体移入新的离心柱中, 最高转速 (14000 g) 离心1 min (总RNA已吸附在柱上)。取出离心柱并弃去收集管中溶液, 将离心柱放回收集管中。

10. 向离心柱中加入550 µl 溶液RW2。最高转速 (14000 g) 离心60 s, 取出离心柱并弃去收集管中溶液, 将离心柱放回原收集管中。

11. 向离心柱中加入550 µl 溶液RW2。最高转速 (14000 g) 离心10 s, 取出离心柱并弃去收集管中溶液, 将离心柱放回原收集管中。

12. 最高转速 (14000 g) 离心2 min。

13. 将离心柱取出, 放入1.5 ml离心管中。向柱中加入50~100 µl RNase-Free水, 静置2~3 min。最高转速 (14000 g) 离心1 min。RNA溶液即从离心柱上洗脱并收集在离心管中。