

基因组 DNA 提取实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
医用离心机	湖南凯达科学仪器有限公司	TGL-18M
超净工作台	上海力辰邦西仪器科技有限公司	SW-CJ-1D
电泳仪	北京六一仪器厂	DYY-7C

2、主要试剂及货号

名称	厂家	货号
Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒	上海生工	B518251
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218
离心管	Axygen	MCT-150-L-C
TIP 头	Axygen	
琼脂糖	擎科	TSJ001

二、基因组 DNA 提取步骤

1、动物组织处理: 取约 25 mg 动物组织用液氮研磨成粉末加到 1.5 mL 离心管中, 加入 180 μ l Buffer ACL, 再加入 20 μ l Proteinase K 溶液, 震荡混匀。56° C 水浴至细胞完全裂解。在水浴后加入 20 μ l RNase A (10 mg/mL), 室温放置 2-5 min

2、贴壁培养细胞: 弃尽培养液, 每 10 cm² 细胞加入 200 μ l Buffer PBS 和 20 μ l Proteinase K, 轻轻晃动培养瓶, 收集细胞转移至新的离心管中, 再加入 200 μ l Buffer CL, 震荡混匀, 56° C 水浴 10 min。在水浴后加入 20 μ l RNase A (10 mg/mL), 室温放置 2-5 min。继续步骤 3~8。

3、悬浮培养细胞: 收集细胞, 离心去除培养液, 加入 200 μ l Buffer PBS 和 20 μ l Proteinase K, 混匀。再加入 200 μ l Buffer CL, 震荡混匀, 56° C 水浴 10 min。在水浴后加入 20 μ l RNase A (10 mg/mL), 室温放置 2-5 min。继续步骤 3~8。

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司
武汉长衍病理科技有限公司

- 4、加入 200 μ l Buffer CL，充分颠倒混匀。加入 Buffer CL 后，如有沉淀产生，可 70° C 水浴 10 min。
- 5、加入 200 μ l 的无水乙醇，充分颠倒混匀。加入无水乙醇后可能会产生半透明纤维状悬浮物，不影响 DNA 的提取和应用。
- 6、将吸附柱放入收集管中，用移液器将溶液和半透明纤维状悬浮物全部加入吸附柱中，静置 2 min，再 10,000 rpm 室温离心 1 min，倒掉收集管中废液。
- 7、将吸附柱放回收集管中，向吸附柱中加入 500 μ l CW1 Solution，10,000 rpm 离心 30 s，倒掉收集管废液。使用前注意溶液中是否按比例加入无水乙醇。
- 8、将吸附柱放回收集管中，向吸附柱中加入 500 μ l CW2 Solution，10,000 rpm 离心 30 s，倒掉收集管废液。使用前注意溶液中是否按比例加入无水乙醇。
- 9、将吸附柱重新放回收集管中，于 12,000 rpm 室温离心 2 min，离去残留的 CW2 Solution。将吸附柱打开盖子于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残留的 CW2 Solution，CW2 Solution 的残留会影响基因组 DNA 的产量和后续的实验。
- 10、取出吸附柱，放入一个新的 1.5 mL 离心管中，加入 50-200 μ l CE Buffer 静置 3 min，12,000 rpm 室温离心 2 min，收集 DNA 溶液。提取的 DNA 琼脂糖电泳检测，主带清晰无明显降解可立即进行下一步实验或-20° C 保存。