

# 操作手册

## **DNA/RNA 共提试剂盒**（配合 DNA/RNA 保护剂使用）

Catalog No. TC703-50 （50 次反应）

### Highlights

- 可有效的从任何细胞，组织，血液和生物液体中提取到 DNA 和 RNA。
- 得到的 DNA 和 RNA 可应用 高通量测序等实验。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
DNA/RNA 裂解液	室温	50 ml
DNA/RNA 预洗液	室温	50 ml
DNA/RNA 洗涤液	室温	24 ml 使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
DNase I	-20°C	1 管
DNA 消化液	室温	4 ml
DNA/RNA 保护剂 (2X)	室温	25 ml
PK 消化液	室温	5 ml
蛋白酶 K 套装	-20°C	20 mg
3 号过滤柱 (黄色)	室温	50 个
3 号柱 G (绿色)	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

## 特性:

1. 样品来源: 细胞 (动物, 血液细胞等), 组织 (难裂解的样品, FFPE等), 血液, 生物液体, 保存在DNA/RNA保护剂中的样品。
2. 样品保存: DNA/RNA保护剂可裂解细胞, 灭活病毒和核酸酶活性, 可在常温下运输和保存各种样品。
3. 片段大小: 回收到的基因组DNA片段≥40kb,回收到的RNA≥17 nt。

4. 所需设备：台式离心机，涡旋仪，55℃的水浴锅或者金属浴。

## 试剂制备

**DNA/RNA 洗涤液** 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

需要添加 96ml100%的乙醇(或 104ml95%的乙醇)到 24ml 的 **RNA 洗涤液** 中

## **蛋白酶K**

需添加1040μl蛋白酶K保存液到冻干粉的蛋白酶K里，蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml，之后放在-20℃保存

## **DNase I**

添加275μl的RNase-free H<sub>2</sub>O到冻干粉状态的DNase I中，DNase I浓度为1U/μl，颠倒混匀后放在-20℃保存

## 操作步骤:

整个操作步骤是由2个步骤组成：(I) 样品裂解 (II) DNA/RNA纯化

### (I) 样品裂解

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行。

## 细胞

### 固体组织与血液细胞 (PBMC,WBC)

#### 血液样品 (哺乳动物)

1.将保存在DNA/RNA保护剂中的血液样品每400μl 保护剂与血液的混合物添加8μl 蛋白酶K混匀，在室温下（20-30℃）放置30分钟。

2.添加等体积的异丙醇并且涡旋混匀，然后进行纯化步骤。

#### 其他液体样品

添加3倍体积DNA/RNA裂解液到每1体积的样品中（例如，300μl的裂解液到100μl的样品中）

### 保存在DNA/RNA保护剂中的样品

将保存在DNA/RNA保护剂中的样品恢复到室温（20-30℃）下匀浆，添加1体积的DNA/RNA裂解液混匀。

## (II) DNA/RNA纯化

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行，如无特殊说明离心时间均为30秒。

1. 将上述混合物转移到3号过滤柱（黄色）中，并套在收集管上离心。3号柱的承载体积一般为700μl以内。  
保存3号过滤柱（黄色）进行DNA的提取，保存滤出液进行RNA的提取。

DNA纯化步骤 (DNA结合在柱子上)	RNA纯化步骤 (RNA在滤出液中)
2. 将3号过滤柱（黄色）套在一个新的收集管内。	2. 添加等体积的（95-100%）无水乙醇到上述滤出液中混匀，将混合物添加到3号柱G(绿色)中，并将3号柱G(绿色)套在一个收集管中离心。去除滤出液。此时RNA已经结合到柱子上，并且可以采用柱上消化的方式进行DNase I消化（见附录）。

3. 添加400μl DNA/RNA预洗液到柱中，离心。去除滤出液。
4. 添加700μl DNA/RNA洗涤液到柱中，离心。去除滤出液。
5. 添加400μl DNA/RNA洗涤液到柱中，离心2分钟以确保不残留乙醇。去除滤出液。
6. 取出柱子，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加100μl RNase-free H<sub>2</sub>O（事先在 65-70℃ 水中加热效果更好），室温放置5分钟离心洗脱DNA或RNA。

### 附录:

#### 柱上DNase I消化处理

此步骤主要是为了去除痕量的DNA. a) 添加400μl的DNA/RNA洗涤液到柱子上，离心。去除滤出液。

b) 对于每一次的样品处理需要制备80μl的DNase I反应液。配比为 DNase I 5μl DNA消化液 35μl

c) 直接添加80μl的DNase I反应液到柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。