

快速DNA/RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.0)

产品亮点

- ✧ 独特的纯化可纯化来自细胞和组织的DNA和总RNA（包括small/micro RNAs）。
- ✧ 高质量的DNA和RNA分别洗脱，并可应用于任何下游应用。

产品货号：

TD7001-50（50次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
产品特性	1
产品描述	1
操作步骤	3
附 录	5
FAQ常见问题及解决办法	7
组件查询	8

产品组份

试剂盒组成	50次	保存
DNA/RNA裂解液	50ml	室温
DNA/RNA预洗液	50ml	室温
DNA/RNA洗涤液（未添加乙醇）	24ml*2	室温
无DNase/RNase水	10ml	室温
3号柱Y（黄色）	50个	室温
2号CR纯化柱	50个	室温
收集管	50个*3	室温

产品特性

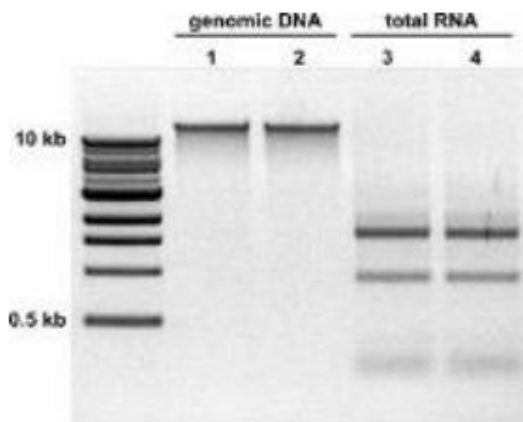
- ✧ 样品来源：细胞（动物、革兰氏（-）细菌），柔软且易于裂解的组织，DNA/RNA保护剂或其他保存试剂中的样品，以及酶反应（例如DNase I处理、蛋白酶K处理）。与全血和尿液样本不兼容。
- ✧ 大小：基因组DNA（≥40kb），线粒体和病毒DNA（如果存在）和总RNA包括小/微RNA（≥17nt）。
- ✧ 纯度：A260/A280 & A260/A230>1.8。DNA和RNA可直接用于二代测序，RT/qPCR等。
- ✧ 结合能力：3号柱Y（黄色）和2号CR纯化柱分别结合高达100μg DNA和50μg RNA。
- ✧ 兼容性：用于保存试剂中的样品：DNA/RNA保护剂、RNAprotect®、Allprotect®、通用转运介质/病毒转运介质（UTM®/VTM®）和RNAlater™。
- ✧ 洗脱体积：≥25μl 无DNase/RNase水。
- ✧ 所需设备（用户提供）：微离心机、涡旋仪。

产品描述

- ✧ 快速DNA/RNA提取试剂盒提供了一种快速的方法，用于从细胞（动物、口腔、血沉棕黄层、革兰氏（-）细菌）和柔软易于裂解的组织中分离高质量的基因组DNA和总RNA。

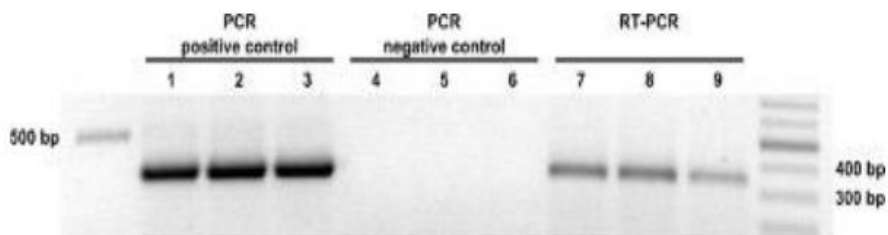
- 该试剂盒采用独特的纯化柱技术，可获得高质量的DNA和总RNA（包括17-200nt的小RNA），可用于二代测序、RT/qPCR、杂交等。

来自细胞的高质量DNA和RNA



使用快速DNA/RNA提取试剂盒从人上皮细胞（HCT116）中分离的基因组DNA（泳道1、2）和总RNA（泳道3、4）。

DNA&RNA可用于下游实验



使用快速DNA/RNA提取试剂盒从人上皮细胞（HCT116）中分离DNA和RNA后，PCR扩增 β -肌动蛋白转录物（353bp片段）PCR阳性对照（DNA模板；泳道1、2、3），PCR阴性对照（RNA模板；泳道4、5、6），RT-CR（泳道7、8、9）。

投入量与平均得率

样本	平均基因组DNA得率	平均RNA得率	试剂盒最大处理量
细胞	4 μ g (每10 ⁶ 个细胞)	10 μ g (每10 ⁶ 个细胞)	高达10 ⁷
HeLa	6 μ g	15 μ g	
高得率组织 (小鼠)	\geq 30 μ g (每10mg)	\geq 30 μ g (每10mg)	高达20mg
脾脏	50-70 μ g	30-50 μ g	
肝脏	15-30 μ g	40-60 μ g	
低得率组织 (小鼠)	\leq 30 μ g (每10mg)	\leq 30 μ g (每10mg)	高达50mg
大脑, 心脏	5-15 μ g	5-15 μ g	
肌肉	5-15 μ g	5-20 μ g	
肺	15-30 μ g	10-20 μ g	
肠	15-30 μ g	10-30 μ g	
肾脏	15-30 μ g	20-30 μ g	
全血	每1ml	每1ml	高达3ml
猪	5-10 μ g	10-20 μ g	
人	2-5 μ g	2-5 μ g	

操作步骤

该方案包括：： I) 溶液制备、II) 样品制备、III) DNA/RNA纯化

I) 溶液制备

✧ 将96ml 100%乙醇 (104ml 95%乙醇) 加入24ml DNA/RNA洗涤液浓缩液中。

II) 样品制备

✧ 除非指定说明，以下所有步骤均在室温下执行，在10,000-16,000 \times g离心30秒。

样品储存在DNA/RNA保护剂中 (细胞、组织等)

1. 如果冷冻，在DNA/RNA保护剂中解冻均质样品至室温 (20-30 $^{\circ}$ C)，用旋涡仪混合均匀。
2. 加入等体积的DNA/RNA裂解液 (1: 1)，混合均匀并进行纯化，第4页。

细胞与组织 (哺乳动物)

1. 细胞

- a. 如果是悬浮状态，离心 (\leq 500 \times g，离心1分钟)，去除上清，将细胞重新悬浮在DNA/RNA裂解液中 (见下表)。继续进行纯化操作，第4页。

- b. 如果粘连，从培养容器中取出液体培养基。然后将DNA/RNA裂解液直接加入培养皿（见下表）。通过刮拭、吹洗等方法将细胞从培养皿表面脱落至裂解液中。继续进行纯化操作，第4页。

细胞	革兰氏阴性菌	加入DNA/RNA裂解液体积
$\leq 5 \times 10^6$	$\leq 10^8$	$\geq 300\mu\text{l}$
$5 \times 10^6 - 10^7$	$\leq 5 \times 10^8$	$\geq 600\mu\text{l}$

2. 组织

- a. 将适量的新鲜或冷冻样品（见下表）浸入DNA/RNA裂解液中并均质。

组织	加入DNA/RNA裂解液体积
高产 ($\leq 25\text{mg}$)	$\leq 600\mu\text{l}$
低产 ($\leq 50\text{mg}$)	

- b. 离心，并将上清液转移到无核酸酶管中（未提供）。继续进行纯化操作，第4页。

III) DNA和RNA纯化（分两部分）

✧ 除非指定说明，以下所有步骤均在室温下执行，在10,000-16,000xg离心30秒。

- 将样品转移到收集管中的3号柱Y（黄色）中并离心。保留用于RNA纯化的过滤液和用于DNA纯化的纯化柱！
-

a. DNA纯化（DNA在纯化柱中）	b. RNA纯化（RNA在过滤液中）
将3号柱Y（黄色）转移到新的收集管中	加入等体积乙醇（95-100%），混合均匀。 示例：向300 μl 过滤液中加入300 μl 乙醇。 然后将混合物转移到收集管中的2号CR纯化柱中并离心。弃掉滤液。 此时，可以进行DNase I处理（见第5页）。

- 向柱中加入400 μl DNA/RNA预洗液，离心。弃掉滤液。
- 向柱中加入700 μl DNA/RNA洗涤液，离心，弃掉滤液。
- 加入400 μl DNA/RNA洗涤液，离心2分钟，确保洗涤液完全去除。然后小心地将纯化柱转移到无核酸酶管中（未提供）。
-

a. 洗脱DNA时将100 μl 无DNase/RNase水直接加入柱基质中，静置2-5分钟后离心。或者，对于需要高浓度的DNA使用 $\geq 50\mu\text{l}$ 洗脱。	b. 洗脱RNA时将50 μl 无DNase/RNase水直接加入到柱基质中并离心。或者，对于需要高浓度的RNA使用 $\geq 25\mu\text{l}$ 洗脱。
--	--

洗脱的DNA/RNA可立即使用或冷冻保存。

附录

样品稳定存储在DNA/RNA保护剂中

- ✧ 液体样品（如全血）：在1体积样品（3:1）中加入3体积DNA/RNA保护剂（1X）。混匀。
- ✧ 固体样品（例如，颗粒状细胞、组织）：将样品（不超过10%（v/v或w/v））浸入DNA/RNA保护剂（1X）中并均质（见附录，第5页）。
- ✧ 将样品保存在DNA/RNA保护剂中，环境温度下 ≥ 1 个月或在冷冻温度下长期保存。DNA/RNA保护剂与大多数基于胍的提取方法直接兼容（例如，无需从裂解/均质样品中去除试剂）。

RNAprotect、Allprotect、RNAlater、UTM/VTM、生理盐水或PBS中保存的样品

- ✧ RNAprotect®、Allprotect®：在1体积的液体样品中加入3体积的DNA/RNA裂解液（3:1）。根据样品类型充分混合和/或均质（见样品制备，第3页）。然后，进行纯化，第4页。
- ✧ RNAlater™：
 - a. 细胞：通过离心以高达 5,000 x g 的速度沉淀并去除RNAlater（上清液）。继续阅读第3页的样品制备。
 - b. 组织-用镊子转移到新管中，并去除任何多余的RNAlater™。进行样品制备，第3页。或者，对于无法去除RNAlater的液体样品，在1体积液体样品中加入1体积无核酸酶的水（或PBS）（1:1）混合。然后在1体积样品/水（或PBS）混合物中加入4体积DNA/RNA裂解缓冲液（4:1）。再次混合，进行第4页的总RNA纯化。
- ✧ 储存在UTM®/VTM®、生理盐水或PBS中的拭子样品：除去拭子，在1体积样品中加入3体积DNA/RNA裂解液（3:1）。混合均匀，然后进行纯化，第4页。
可选：为了灭活病原体，在纯化前，在室温下保存，将1体积DNA/RNA保护剂（2X）加入1体积液体样品（1:1）并混合均匀。然后进入样品制备，样品在DNA/RNA保护剂中，第3页。

液体/纯化反应（DNase I处理RNA，体外转录等）

- ✧ 在 $\geq 50\mu\text{l}$ 的液体样品中加入 $150\mu\text{l}$ DNA/RNA裂解液（3:1），混合均匀。进行纯化，第4页，步骤2b。

DNase I处理（柱内）

- ✧ 对于无DNA的RNA，可以使用DNase I（单独出售）和DNA/RNA洗涤液进行处理。
 1. 按照RNA结合步骤（第4页，步骤2b），向柱中加入 $400\mu\text{l}$ DNA/RNA洗涤液，离心并弃掉滤液。
 2. 处理每个样品时，在无核酸酶管（未提供）中准备DNase I反应混合物（见下表），并轻轻翻转以混合。
 3. 在柱基质中直接加入 $80\mu\text{l}$ ，室温（20-30°C）孵育15分钟。继续进行纯化操作（第4页，步骤3）。

DNase I反应液

DNase I（1U/ μl ）	5 μl
DNA消化液	75 μl

蛋白酶K处理

- ◇ 蛋白酶K处理（可选）可以对储存在DNA/RNA保护剂中的富含蛋白质（例如，组织、血细胞等）的样品进行处理，使用蛋白酶K和PK消化液。
 1. 每300µl DNA/RNA保护剂样品，加入15µl蛋白酶K和30µl PK消化液。在室温（20-30°C）下混合孵育≥30分钟（均质）或2-5小时（未均质）。可能需要进行优化。
 2. 从均质组织中去沉淀，离心并将上清转移到无核酸酶管中（未提供）。
 3. 在上清液中加入DNA/RNA裂解液（1:1），混合均匀。继续进行纯化步骤，第4页。

蛋白质纯化：丙酮沉淀蛋白质

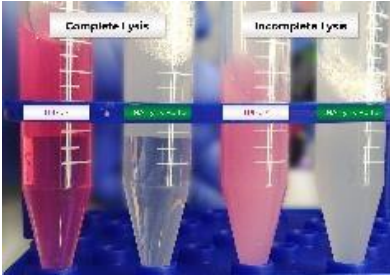
- ◇ RNA与纯化柱结合后（第4页，步骤2b），可以纯化滤液的蛋白质（变性）：
 1. 加入4倍体积的预冷的丙酮（-20°C）以4:1的比例混合。
 2. 将样品在冰上孵育30分钟。
 3. 以最大速度离心10分钟。丢弃上清。保留沉淀。
 4. 向蛋白颗粒中加入400µl乙醇（95-100%）。以最大速度离心1分钟。丢弃上清。
 5. 将蛋白质颗粒在室温下风干10分钟。
 6. 在适合下游应用的缓冲液（如SDS-PAGE样品装载缓冲液）中重悬并旋转颗粒。

裂解管均质化

- ◇ 推荐用于难裂解样品（如组织、植物、种子、微生物等）的完全和高效均质。裂解管单独出售。
- ◇ 对于高速（例如，MP Bio FastPrep-24、Bertin Precellys）和低速（例如，Vortex Genie）均质机，可能需要优化裂解时间。

样本	组织	微生物	
	哺乳动物类	植物/种子、昆虫	细菌、拭子、酵母、粪便/土壤
货号	TS60003（2.0mm）	TS6003（2.0mm）	TS6012（0.5mm&0.1mm）
高速	30-60sec	3-5min	30-60sec
低速	3-5min	15-20min	5-10min

FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A: 可能的原因和推荐的解决方案
沉淀及裂解物粘稠	<p>不完全裂解/样本投入量过大</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 如果出现沉淀（在裂解物中加入乙醇后）或裂解物非常粘稠，请增加DNA/RNA保护剂或DNA/RNA裂解液的体积，以确保完全裂解和均质，直到裂解物透明（见图）。 
低纯度（A260/A230nm、A260/A280nm）	<p>样品处理</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 乙醇/盐污染。离心步骤后，小心地从收集管中取出纯化柱，以防止缓冲液携带。或者，用纸巾或毛巾吸干收集管。◇ 确保裂解液和洗涤液已完全通过纯化柱的基质。这可能需要以更高的速度/更长的时间进行离心。 <p>不完全裂解/残留细胞碎片</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 按比例增加DNA/RNA保护剂或DNA/RNA裂解液的体积，以确保完全裂解和均质。一定要离心并使所有细胞碎片充分沉淀。
低得率	<p>样品输入</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 过多的样本投入量或不完全的裂解/均质会导致细胞碎片堵塞或使纯化柱过载，导致核酸恢复受损。使用较少的样本或增加DNA/RNA保护剂或DNA/RNA裂解液的体积。◇ 纯化前对样品进行蛋白酶K处理。见附录蛋白样本（血液、血浆/血清等）
DNA污染	<p>去除DNA</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 进行柱内DNase I处理（第5页）或进行DNase I处理后纯化，然后重新纯化处理过的样品。
RNA降解	<p>防止RNA降解</p> <ul style="list-style-type: none">◇ 立即收集和裂解新鲜样品到DNA/RNA保护剂或DNA/RNA裂解液确保稳定性。均质后的样品可以冷冻保存以备以后处理。

组件查询

组件名称	货号	规格	保存
DNA/RNA裂解液	TD7001-1-50	50ml	室温
DNA/RNA预洗液	TD7010-2-50	50ml	室温
DNA/RNA洗涤液（未添加乙醇）	TD7010-3-24	24ml*2	室温
无DNase/RNase水	TW1001-10	10ml	室温
3号柱Y（黄色）	TC1006-50-F	50个	室温
2号CR纯化柱	TC1078-50	50个	室温
收集管	TC1001-50	50个*3	室温