

# DNA/RNA共提试剂盒

使用说明书 (Ver.0.0.3)

## 产品特点

- ◇ 纯化柱可从任何样品，包括细胞、固体组织、生物液体、环境样品、拭子、和 DNA/RNA 保护剂中的任何样品中纯化 DNA 和总 RNA（包括 small/microRNA）
- ◇ DNA/RNA 保护剂和独特的蛋白酶 K 保存和裂解技术
- ◇ DNA 和 RNA 可分别洗脱，用于下一代测序、RT/qPCR 等。
- ◇ 包含 DNaseI。

产品货号：

TD703-50 (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
溶液制备	2
操作步骤	2
◇ 样品裂解	2
◇ DNA/RNA 纯化	3
附录	3
组件查询	4

## 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 使用前按说明加指定量乙醇	室温
无 DNase/RNase 水	10ml	室温
DNA/RNA 保护剂（2X）	25ml	室温
DNaseI	250U	-20°C
DNA 消化液	4ml	室温
PK 消化液	5ml	室温
蛋白酶 K 溶液（20mg/ml）	3*1ml	-20°C
3 号 Y 纯化柱（黄）	50 个	室温
3 号 CG 纯化柱（绿）	50 个	室温
2ml 收集管	150 个	室温

## 产品特性

- ✧ 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。
- ✧ 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。
- ✧ 片段大小：回收到的基因组 DNA 片段 $\geq 40\text{kb}$ ，回收到的 RNA $\geq 17\text{nt}$ 。
- ✧ 结合能力：3 号 Y 纯化柱（黄）和 3 号 CG 纯化柱（绿）分别产生高达 100 $\mu\text{g}$  的 DNA 和 RNA
- ✧ 所需设备：台式离心机，涡旋仪，55°C 的水浴锅或者金属浴。

## 溶液制备

1. 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。
2. DNA/RNA 保护剂（2X）  
可以添加等体积的纯净水制备成 DNA/RNA 保护剂（1X）
3. 蛋白酶 K  
蛋白酶 K 的终浓度约为 20mg/ml，需要放在-20°C保存
4. DNaseI  
添加 275 $\mu$ l 的无 DNase/RNase 水到冻干粉状态的 DNaseI 中，DNaseI 浓度为 1U/ $\mu$ l，颠倒混匀后放在-20°C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10,000-16,000xg范围内进行。

保存在DNA/RNA保护剂中的样品：

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400 $\mu$ l保护剂与血液的混合物添加8 $\mu$ l蛋白酶K混匀，在室温下（20-30°C）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。

细胞与组织样品（保存在保护剂里的样本）

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

### 新鲜组织样品

根据以下表格添加保护剂

组织样本量	添加DNA/RNA保护剂（1X）
低产量组织 $\leq$ 50mg	$\leq$ 600 $\mu$ l
高产量组织 $\leq$ 25mg	

- a. 针对每300 $\mu$ l的上述混合物，添加15 $\mu$ l蛋白酶K和30 $\mu$ lPK消化液。混合，并且在20-30°C下放置30分钟以上（匀浆后的混合液），或2-5个小时（未匀浆的混合液）。
- b. 去除不溶的杂质，离心将上清转移到一个干净的离心管内，添加1体积的DNA/RNA裂解液混匀。
- c. 进行纯化步骤。

## II) DNA/RNA 纯化

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000xg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Y纯化柱（黄）中，并套在收集管上离心。保存3号Y纯化柱（黄）进行DNA的提取，保存滤出液进行RNA的提取。

针对血液样品需要额外增加此步骤：

去除上述滤出液，将3号Y纯化柱（黄）套在一个干净的离心管上，添加200 $\mu$ l的DNA/RNA裂解液到过滤柱的基质上，放置5分钟然后离心。保存滤出液根据需要下面的操作。

2.

DNA纯化步骤 (DNA结合在3号Y纯化柱（黄）上)	RNA纯化步骤 (RNA在滤出液中)
将3号Y纯化柱（黄）套在一个新的收集管内。	添加等体积的（95-100%）乙醇到上述滤出液中混匀，将混合物添加到3号CG纯化柱（绿）中，并将3号CG纯化柱（绿）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DNaseI消化（见附录）。

3. 添加400 $\mu$ l DNA/RNA预洗液到柱中，离心。去除滤出液。
4. 添加700 $\mu$ l DNA/RNA洗涤液到柱中，离心。去除滤出液。
5. 添加400 $\mu$ l 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50-100  $\mu$ l 无DNase/RNase水，室温放置5分钟离心洗脱DNA或RNA。

## 附录

### ✧ 柱上 DNaseI 消化处理

此步骤主要是为了去除痕量的DNA。在RNA提取步骤2b环节操作之后

1. 添加400 $\mu$ l的DNA/RNA洗涤液到柱子上，离心。去除滤出液。
2. 对于每一次的样品处理需要制备80 $\mu$ l的DNaseI反应液。配比为：

DNaseI	5 $\mu$ l
DNA消化液	75 $\mu$ l

3. 直接添加80 $\mu$ l的DNaseI反应液到柱上，在室温下（20-30 $^{\circ}$ C）孵育15分钟。
4. 继续操作后面的步骤完成RNA的提取。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
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	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-10	10ml	室温
DNA/RNA 保护剂 (2X)	TR120-25	25ml	室温
DNaseI	TE1009-A	250U	-20°C
DNA 消化液	TE1010-1-4	4ml	室温
PK 消化液	TR1200-1-5	5ml	室温
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-1	3*1ml	-20°C
3 号 Y 纯化柱 (黄)	TC1006-50-F	50 个	室温
3 号 CG 纯化柱 (绿)	TC1006-50-G	50 个	室温
2ml 收集管	TC1001-50	50 个	室温