

# 血清/血浆游离 DNA/RNA 提取试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.1.1.3)

## 产品特点

- ◇ 可从 3ml 以内的血清/血浆或其它液体样品中提取到高纯度的游离 DNA 和/或游离 RNA。
- ◇ 获得的 DNA 和 RNA 产量高、纯度好, 可以直接用于高通量测序等分子生物学实验。
- ◇ 和同类产品比较, 该试剂盒的结合体系最多可回收到 515x microRNA。

产品货号:

TR172- 10 (10 次反应) TR172- 50 (50 次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录 Contents

<b>产品组份</b>	<b>1</b>
<b>注意事项</b>	<b>1</b>
<b>溶液制备</b>	<b>2</b>
<b>操作步骤</b>	<b>2</b>
◇ <b>平行提取游离 DNA 和游离 RNA</b>	<b>2</b>
◇ <b>游离 DNA 和游离 RNA 共同提取</b>	<b>3</b>
◇ <b>附录 1</b>	<b>4</b>
<b>组件查询</b>	<b>5</b>

## 产品组份

试剂盒组成	10 次	50 次	保存
蛋白酶 K 溶液	1.6ml	8 ml	-20°C
游离核酸消化液	30ml	150 ml	室温
游离核酸结合液	60ml	2x150 ml	室温
游离核酸回收液	4ml	20 ml	室温
游离核酸洗涤液 1	20 ml	100 ml	室温
游离核酸洗涤液 2	6ml	3x12 ml	室温
无DNase/RNase水	2 ml	10 ml	室温
1 号 C 纯化柱	10 个*2	50 个*2	室温
25ml 漏斗	10 个	25 个*2	室温
3 号 Y 纯化柱(黄)	10 个	50 个	室温
2ml 收集管	---	200 个	室温

## 注意事项

- ◇ 简石生物产品仅供研究使用，并应由供专业人员操作。
- ◇ 本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。
- ◇ 售出后一年内产品可质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

## 产品特性

- ◇ 样品种类: 最多 3ml 的血清，血浆，羊水，脑脊液 (CSF)，尿液等液体样本。
- ◇ 纯度: 获得的游离 DNA 和游离 RNA 可以直接用于 qPCR, 高通量测序等各种分子生物学实验。
- ◇ 片段大小: DNA $\geq$ 50bp, RNA $\geq$ 17nt。
- ◇ 产量: 本试剂盒针对无细胞的游离核酸提取经过优化，总量根据不同的样品个体差异可能会比较大。一般从血清或血浆中提取到的游离 DNA 和游离 RNA 的浓度在 1-100 ng/ml。
- ◇ 需要的仪器设备: 水浴锅或者金属浴。微型离心机，负压多联器或立式离心机。
- ◇ 操作时间: 一般 30-45 分钟可以处理 10 个样品。样品消化步骤需要 2 个小时。

## 溶液制备

使用前需要添加 48 ml 95-100%的无水乙醇到 12ml 的游离核酸洗涤液。

## 操作步骤:

### 平行提取游离 DNA 和游离 RNA

所有的离心步骤均在 $\geq 12,000 \times g$  的离心力下离心 30 秒除非特殊说明。

一般常温 (20-30°C) 进行以下操作步骤。

1. 在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200 $\mu$ l样品(血浆,血清或其他生物液体样品)添加 200 $\mu$ l游离核酸消化液,放入一个15ml的离心管,混匀。如果样品体积 $\geq 1.5$ ml,则需要使用50ml的离心管。
3. 按照每200 $\mu$ l样品添加10 $\mu$ l的蛋白酶K溶液,涡旋混匀10秒,37°C下孵育2小时。
4. 添加1体积的游离核酸结合液到消化的样品中并且涡旋混匀10秒。(例如400 $\mu$ l结合液到410 $\mu$ l的消化样品中。)
5. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤4中的混合物中,涡旋混匀10秒。  
(例如1.2ml的异丙醇到810 $\mu$ l的混合物中。)

快速操作表格

样品体积	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1 ml	3 ml (最大)
游离核酸消化液	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1 ml	3 ml
蛋白酶 K	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l	50 $\mu$ l	150 $\mu$ l
涡旋混匀并且在 37°C下孵育 2 小时				
游离核酸结合液	400 $\mu$ l	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 将 25ml 漏斗套到 3 号 Y 纯化柱(黄)内,连接紧密后放置在负压多连器上。
7. 倒入上述步骤 6 的混合液,打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后,关闭真空泵并拔掉连接的 25ml 漏斗。
8. 倒入 600 $\mu$ l 游离核酸洗涤液 1 到纯化柱上,打开真空开关,让液体完全通过 3 号 Y 纯化柱(黄),关闭真空泵。
9. 将 3 号 Y 纯化柱(黄)套在 2ml 收集管上,然后放置在台式离心机上全速离心 2 分钟以去除液体残留,然后将 3 号 Y 纯化柱(黄)套在一个干净的 1.5ml 离心管内。
10. 添加 200 $\mu$ l 的游离核酸回收液到 3 号 Y 纯化柱(黄)中,室温放置 3 分钟,离心,保存滤出液。

<p>滤出液：游离 RNA 分离</p> <p>A1. 添加 300µl 无水乙醇 (95-100%) 到滤出液中，混匀</p> <p>A2. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。</p> <p>A3. 离心去除滤出液。</p> <p>A4. 继续步骤 11。</p>	<p>3 号 Y 纯化柱(黄)：游离 DNA 分离</p> <p>B1. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个新的 2ml 收集管上。</p> <p>B2. 添加 600µl 的游离核酸洗涤液 1，离心去除滤出液。</p> <p>B3. 添加 700µl 的游离核酸洗涤液 2，离心去除滤出液。</p> <p>B4. 重复一次步骤 B3。</p> <p>B5. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个新的离心管内。</p> <p>B6. 添加 100µl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上，室温下放置 2 分钟然后离心，去除 3 号 Y 纯化柱(黄)</p> <p>B7. 添加 200µl 的游离核酸回收液到上述离心管内，混匀</p> <p>B8. 添加 300µl 无水乙醇 (95-100%) 到离心管内，混匀</p> <p>B9. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。离心去除滤出液。</p> <p>B10. 继续步骤 11。</p>
---	--

11. 添加 400µl 的游离核酸洗涤液 1，离心去除滤出液。
12. 添加 700µl 的游离核酸洗涤液 2，离心去除滤出液。
13. 添加 400µl 的游离核酸洗涤液 2 到 1 号 C 纯化柱中，离心 2 分钟完全去除纯化柱上残留的液体，将 1 号 C 纯化柱转移到一个干净的离心管内。
14. 添加 15µl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上，放置 2 分钟然后离心来洗脱游离 DNA 或游离 RNA。

### 游离DNA和游离RNA共同提取

所有的离心步骤均在  $\geq 12,000 \times g$  的离心力下离心 30 秒除非特殊说明。

一般常温 (20-30°C) 进行以下操作步骤。

1. 在  $\geq 12,000 \times g$  的离心力下离心样品 15 分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每 200µl 样品 (血浆，血清或其他生物液体样品) 添加 200µl 游离核酸消化液体，放入一个 15ml 的离心管，混匀。如果样品体积  $\geq 1.5\text{ml}$ ，则需要试用 50ml 的离心管。
3. 按照每 200µl 样品添加 10µl 的蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 10 秒，37°C 下孵育 2 小时。
4. 添加 1 体积的游离核酸结合液到消化的样品中并且涡旋混匀 10 秒。(例如 400µl 结合液到 410µl 的消化样品中。)
5. 添加 1.5 倍体积的 100% 的异丙醇到步骤 4 中的混合物中，涡旋混匀 10 秒。  
(例如 1.2ml 的异丙醇到 810µl 的混合物中。)

快速操作表格

样品体积	200 µl	500 µl	1 ml	3 ml (最大)
------	--------	--------	------	-----------

游离核酸消化液	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1 ml	3 ml
蛋白酶 K	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l	50 $\mu$ l	150 $\mu$ l
涡旋混匀并且在 37°C 下孵育 2 小时				
游离核酸结合液	400 $\mu$ l	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 将 25ml 漏斗套到 3 号 Y 纯化柱(黄) 内, 连接紧密后放置在负压多连器上。
7. 倒入上述步骤 6 的混合液, 打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后, 关闭真空泵并拔掉连接的 25ml 漏斗。
8. 倒入 600 $\mu$ l 游离核酸洗涤液 1 到纯化柱上, 打开真空开关, 让液体完全通过 3 号 Y 纯化柱(黄), 关闭真空泵。
9. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在 2ml 收集管上, 然后放置在台式离心机上全速离心 2 分钟以去除液体残留, 然后将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个干净的 1.5ml 离心管内。
10. 添加 100 $\mu$ l 的无 DNase/RNase 水到 3 号 Y 纯化柱(黄) 中, 室温放置 2 分钟, 离心, 去除 3 号 Y 纯化柱(黄) 。
11. 添加 200 $\mu$ l 的游离核酸回收液到上述离心管内, 混匀
12. 添加 450 $\mu$ l 无水乙醇 (95-100%) 到离心管内, 混匀
13. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。离心去除滤出液。
14. 添加 400 $\mu$ l 的游离核酸洗涤液 1, 离心去除滤出液。
15. 添加 700 $\mu$ l 的游离核酸洗涤液 2, 离心去除滤出液。
16. 添加 400 $\mu$ l 的游离核酸洗涤液 2 到 1 号 C 纯化柱中, 离心 2 分钟完全去除纯化柱上残留的液体, 将 1 号 C 纯化柱转移到一个干净的离心管内。
17. 添加 15 $\mu$ l 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上, 放置 2 分钟然后离心来洗脱游离核酸 (游离 DNA 和游离 RNA) 。

#### 附录1: 处理保存在DNA/RNA Shield保护剂中的样品

对于保存在DNA/RNA Shield保护剂(货号TR120)中的无细胞生物样品。采用下述改进的步骤进行操作。

1. 每1ml的DNA/RNA Shield溶液的样品添加25 $\mu$ l的蛋白酶K溶液, 涡旋混匀10秒, 37°C下孵育2小时。

(例如: 500 $\mu$ l的无细胞体液, 500 $\mu$ l的DNA/RNA Shield保护剂, 25 $\mu$ l蛋白酶K)

2. 添加1体积的游离核酸消化液到上述消化的样品中并且涡旋混匀10秒。

(例如1ml游离核酸结合液到1ml的消化样品中)

3. 添加1体积的游离核酸结合液到到步骤2的混合物中并且涡旋混匀10秒。

(例如2ml游离核酸结合液到2ml的混合物中)

4. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤3中的混合物中，涡旋混匀10秒。

(例如6ml的100%异丙醇到4ml的混合物中)

快速操作表格

样品体积(含保护剂)	200 µl	500 µl	1 ml	3 ml (最大)
蛋白酶 K	5 µl	12.5 µl	25 µl	75 µl
涡旋混匀并且在 37°C下孵育 2 小时				
游离核酸消化液	200µl	500µl	1 ml	3 ml
游离核酸结合液	400µl	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 接下来按照主操作步骤的第 6 步进行游离 DNA，游离 RNA，或者总游离核酸进行提取。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存
蛋白酶 K 溶液	TD3001-2-1.6	1.6ml	-20°C
	TD3001-2-8	8ml	
游离核酸消化液	TR1072-1-30	30ml	室温
	TR1072-1-150	150ml	
游离核酸结合液	TR1073-2-60	60ml	室温
	TR1073-2-150	150ml	
游离核酸回收液	TR1072-3-4	4ml	室温
	TR1072-3-20	20ml	
游离核酸洗涤液 1	TR1072-4-20	20 ml	室温
	TR1072-100	100ml	

游离核酸洗涤液 2	TR1072-5-6	6ml	室温
	TR1072-5-12	12ml	
无DNase/RNase水	TW1001-2	2ml	室温
	TW1001-10	10ml	
1号C纯化柱	TC1004-10	10 个/包	室温
	TC1004-50	50 个/包	
25ml漏斗	TC1039-10	10 个/包	室温
	TC1039-25	25 个/包	
3号Y纯化柱(黄)	TC1006-10-F	10 个/包	室温
	TC1006-50-F	50 个/包	
2ml 收集管	TC1001-200	200 个/包	室温