

通用 DNA/RNA 提取试剂盒（磁珠法）

使用说明书 (版本号: Ver.1.1.5)

产品特点

- ◇ 可从动物组织、土壤、粪便、植物、水样、生物膜、拭子、生物体液中快速提取到高纯度的 DNA/RNA(含 micro RNA)。
- ◇ 该产品创新的裂解体系可以完美裂解革兰氏阳性菌，阴性菌，原生生物，藻类，真菌，病毒。
- ◇ 获得的 DNA/RNA，产量高、纯度高，可以直接用高通量测序等下游分子生物学实验。

产品货号:

TB202- 10 (10 次反应) TB202- 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
注意事项	1
产品特性	1
溶液制备	2
操作步骤	2
◇ 样品裂解匀浆	2
◇ 核酸纯化	3
◇ DNase I 处理 (选做)	4
组件查询	4

产品组份

试剂盒组成	10 次	50 次	保存
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	250 μ l	1 ml	-20 $^{\circ}$ C
DNA/RNA 保护剂 (EZshield) [®]	10 ml	50 ml	室温
DNA/RNA 裂解液	10 ml	50 ml	室温
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	3 ml	15 ml	室温
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	4 ml	20 ml	室温
无 DNase/RNase 水	1 ml	5 ml	室温
DNase I(选配)	50 U	250 U	-20 $^{\circ}$ C
DNA 消化液(选配)	1 ml	4 ml	室温
磁珠	1 ml	5 ml	室温
裂解管 (0.1&0.5mm)	10 个	50 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：可有效的从 100~200mg 以内的哺乳动物组织、粪便、土壤、200mg 以内植物/种子、真菌、细菌细胞、生物膜和水样中有效的提取到基因组 DNA/RNA。
- ◇ 纯度：获得的 DNA/RNA 产量高、纯度好，得到的 DNA/RNA 可应用于高通量测序等各种分子生物学实验。
- ◇ 大小：可回收到大于 10kb 片段的 DNA 和 \geq 17nt 以上核酸 RNA。
- ◇ 产量：每 10 μ l 磁珠最大结合能力为 100 μ g。

溶液制备

1. 磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1、2 在使用之前一定要配好，添加好异丙醇后在试剂瓶上做好标记！
2. 需要添加 10ml 异丙醇到 15ml 的磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1 中。
3. 需要添加 30ml 异丙醇到 20ml 的磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2 中。
4. 溶解冻干粉状态的 DNase I 需要按照管子上的量添加无 DNase/RNase 水。一般 250U 的 DNase I 需要添加 275 μ l 的无 DNase/RNase 水,终浓度为 1U/ μ l。

操作步骤：

整个操作步骤是由2个步骤组成：(I) 样品裂解匀浆 (II) 核酸纯化

(I) 样品裂解匀浆

以下离心步骤均在10,000-16,000 x g下室温（20-30°C）离心30秒，如无特殊说明。

样品类型	最大输入量
动物组织	100mg
土壤、粪便	250mg
植物/种子	200 mg
生物体液样品	250 μ l~2ml
细胞（重悬在DNA/RNA保护剂（EZshield）®中或PBS等液体内）	50-100 mg（ 2×10^8 细菌， 2×10^8 酵母细胞， 2×10^7 哺乳动物细胞动物细胞）
样本保存液配套产品	750 μ l

1. 直接添加样品到裂解管中，然后添加750 μ l的DNA/RNA保护剂（EZshield）®到裂解管中，拧紧盖子防止泄漏，如果样品已经保存在添加了DNA/RNA保护剂（EZshield）®的耗材中，则直接进行第二步。
2. 高频破碎研磨，破碎条件如下：
较坚硬，难破碎的样本
匀浆条件：7m/s(70hz)，45s/cycle，Hold 45Sec，2Cycle
较新鲜，水分较多，糖分较多
匀浆条件：6m/s(50~60hz)，30s/cycle，1Cycle
3. 离心裂解管，16000 xg 5分钟。
4. 将上一步所得上清200 μ l（最多500 μ l）加到一个干净的无DNase/RNase的离心管里。
5. 每200 μ l上清加入10 μ l蛋白酶K，室温情况下，台式混浆器或者涡旋30min。

(II) 核酸纯化

针对不同的目的采用方案 A 或方案 B 进行样品纯化。

方案 A：总核酸（DNA 和 RNA）纯化步骤

1. 上述消化后的混合物，添加等体积的 DNA/RNA 裂解液，充分混匀。
(例如：210 μ l 消化混合物加入 200 μ l DNA/RNA 裂解液)
2. 添加等体积无水乙醇充分混匀，添加20 μ l磁珠混悬液，充分混匀，可使用台式混样器，混悬磁珠 \geq 15min。
3. 将离心管放置在磁力架上面，上下反复颠倒几次，将管壁上的磁珠冲洗下来，当磁珠完全吸附，开盖弃掉废液。
4. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l磁珠DNA/RNA洗涤液1，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
5. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l磁珠DNA/RNA洗涤液2，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
6. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l无水乙醇，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
7. 重复步骤6一次。
8. 室温晾干磁珠，5~10min（不要过分晾干，使得洗脱液难以洗脱磁珠）。
9. 在磁珠上中间部位加50 μ l~100 μ l无DNase/RNase水，混匀5分钟，放回磁力架洗脱总核酸（DNA和RNA）。

方案 B DNA 或 RNA 分别纯化步骤

1. 将上述(I)中消化后的混合物，添加2.5倍体积的DNA/RNA裂解液（例如：210 μ l消化混合物加入500 μ l DNA/RNA裂解液），充分混匀，加入30 μ l磁珠，可使用台式混样器，混悬磁珠 \geq 15min。放回磁力架，分别保留磁珠和干净的液相，准备下一步分别提取DNA/RNA。
- 2.

DNA提取	RNA提取
保留下来的磁珠，进行下一步纯化洗涤。	干净的上清添加等体积的无水乙醇，充分混匀，加入30 μ l磁珠，可使用台式混样器，混悬磁珠 \geq 15min。将离心管放在磁力架上倒掉废液。

3. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l磁珠DNA/RNA洗涤液1，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
4. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l磁珠DNA/RNA洗涤液2，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
5. 将离心管放置在磁力架上取下来，加入500 μ l无水乙醇，充分混匀1min，离心管放回磁力架，当磁珠完全吸附，弃掉废液。
6. 重复步骤5一次。
7. 室温晾干磁珠，5~10min（不要过分晾干，使得洗脱液难以洗脱磁珠）。

- 在磁珠上中间部位加50 μ l~100 μ l无DNase/RNase水，混匀5分钟，放回磁力架洗脱总核酸（DNA和RNA）。

DNase I处理 (选做)

- 在RNA提取第2步后，添加400 μ l的磁珠DNA/RNA洗涤液2冲洗磁珠，放回磁力架，去除废液。
- 针对每一次提取配置 80 μ l的DNase I反应体系（75 μ l的DNA消化液和5 μ l的DNase I溶液）。
注：上述消化体系，不能完全适应各物种的基因组DNA消化条件，如DNA残留过多，应适当加大DNase I的用量。
- 添加80 μ l的DNase I体系到磁珠上，然后在室温下（20-30 $^{\circ}$ C）孵育15分钟。然后进行之后的步骤完成RNA的提取。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-0.25	250 μ l	-20 $^{\circ}$ C
	TD3001-2-1	1 ml	
DNA/RNA 保护剂 (EZshield) [®]	TR110-10	10ml	室温
	TR110-50	50ml	
DNA/RNA 裂解液	TD7001-1-10	10ml	室温
	TD7001-1-50	50ml	
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	TR2130-1-3	3ml	室温
	TR2130-1-15	15ml	
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	TR2130-2-4	4 ml	室温
	TR2130-2-20	20ml	
无 DNase/RNase 水	TW1001-1	1ml	室温
	TW1001-5	5ml	
DNase I(选配)	E1009-A-S	50U	-20 $^{\circ}$ C
	E1009-A	250U	
DNA 消化液(选配)	TE1010-1-1	1ml	室温
	TE1010-1-4	4ml	

磁珠	TD4100-2-1	1ml	室温
	TD4100-2-5	5ml	
裂解管 (0.1&0.5mm)	TS6012-10	10 个/包	室温
	TS6012-50	50 个/包	