

微量DNA/RNA共提试剂盒 (D/R S)

使用说明书 (Ver.1.2.3)

产品特点

- ◇ 本试剂盒是针对用DNA/RNA保护剂 (EZshield®) 保存的样品的后续提取。
- ◇ 可有效的从任何保存在DNA/RNA保护剂中的细胞, 组织, 血液和生物液体中提取到DNA。
- ◇ 得到的DNA和RNA可应用于高通量测序等实验。

产品货号:

TD705-50 (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	1
操作步骤	2
◇ 样品裂解	2
◇ DNA纯化	2
组件查询	3

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)	2*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
DNase I	250 μ l	-20°C
DNA消化液	4ml	室温
PK消化液	5ml	室温
蛋白酶K溶液 (20mg/ml)	3ml	-20°C
1号C-XM纯化柱	50个	室温
1号C纯化柱	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 40kb,回收到的RNA \geq 17 nt。
- ◇ 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：（使用之前需要配制）

- ◇ 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96ml 100%的乙醇（或104ml 95%的乙醇）到24ml的RNA洗涤液中。
- ◇ DNA/RNA保护剂 (2X)

可以添加等体积的水制备成DNA/RNA保护剂 (1X)

◇ 蛋白酶K

蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml, 可常温保存30天不降解, 如长时间保存需要放在-20°C保存。

- ◇ DNase I 添加275μl的无DNase/RNase水到冻干粉状态的DNase I中, DNase I浓度为1U/μl, 颠倒混匀后放在-20°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°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)
≤5mg	≤600μl

- a. 针对每300μl的上述混合物, 添加15μl蛋白酶K和30μl PK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1号C-XM纯化柱中, 并套在收集管上离心。保存1号C-XM纯化柱进行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1号C-XM纯化柱套在一个干净的离心管上, 添加200μl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做下面的操作。

DNA纯化步骤 (DNA结合在1号C-XM纯化柱上)	RNA纯化步骤 (RNA在滤出液中)
2a. 将1号C-XM纯化柱套在一个新的收集管内。	2b. 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1号C纯化柱中, 并将1号C纯化柱套在一个收集管中离心。去除滤出液。此时RNA 已经结合到纯化柱上, 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预洗液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
4. 添加700μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
5. 添加400μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 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15μl (最少6μl) 无DNase/RNase水, 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。在RNA提取步骤2b环节操作之后

- a) 添加400μl的DNA/RNA洗涤液到纯化柱上, 离心。去除滤出液。
- b) 对于每一次的样品处理需要制备40μl的DNase I反应液。配比为 DNase I, 5μl ; DNA消化液, 35μl。
- c) 直接添加40μl的DNase I反应液到纯化柱上, 在室温下 (20-30°C) 孵育15分钟。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	50次	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	室温
无DNase/RNase水	TW1001-10	10ml	室温
DNA/RNA保护剂 (2X)	TR120-25	25ml	室温
DNase I	E1009-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)	TD3001-2-3	3ml	-20°C
1号C-XM纯化柱	TC1103-50	50个	室温
1号C纯化柱	TC1004-50	50个	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温