

DNA/RNA提取试剂盒（磁珠法）

（使用说明书Ver.1.2.7）

产品特点

- ✧ 从血清，血浆，CSF，尿液，唾液，口腔拭子，粪便，组织等样品中提取到DNA/RNA。
- ✧ 提取到的DNA/RNA可应用于RT-PCR，高通量测序，杂交等实验。
- ✧ 包含的DNA/RNA保护剂（EZShield®）可以在常温下运输样品并且灭活病毒。

产品货号：

TB213-48（48次反应） TB213-96（96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	1
◇ 样品制备	1
◇ 样品纯化	2
◇ 参考得率	3

产品组份

试剂盒组成	48次	96次	保存
DNA/RNA保护剂（2X）	25ml	50ml	室温
蛋白酶K溶液	1.2ml	2*1.2ml	-20℃
DNA/RNA裂解液	50ml	100ml	室温
磁珠DNA/RNA洗涤液1	30ml	2*30ml	室温
磁珠DNA/RNA洗涤液2	20ml	2*20ml	室温
无DNA酶/RNA酶水	15ml	30ml	室温
磁珠	3ml	6ml	室温

产品特性

- ✧ 样品来源：血浆，血清，培养物的上清液，CSF，唾液，口腔拭子，粪便，及其保存在DNA/RNA保护剂EZShield®中的样品。
- ✧ 试剂盒内提供的DNA/RNA保护剂EZShield®可稳定核酸并在常温下运输，保护剂可有效裂解细胞并且灭活病毒。
- ✧ 提取到高质量DNA/RNA可应用于NGS，RT/PCR等实验。

溶液制备

添加10ml或20ml的异丙醇到15ml或30ml的磁珠DNA/RNA洗涤液1中。添加15ml或30ml的异丙醇到10ml或20ml的磁珠DNA/RNA洗涤液2中。加入后请及时在方框打钩标记，以免多次加入。蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml，需要放到-20℃长期保存。制备DNA/RNA保护剂（1X）只需等体积添加无DNA酶/RNA酶水到DNA/RNA保护剂（2X）中即可。

操作步骤

以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g 时间30秒，除非特殊说明。且在室温下进行。

样品制备

根据不同的样品类型添加DNA/RNA保护剂。

- ✧ 细胞样品
沉淀10⁶以内哺乳动物细胞（≤500xg离心1分钟），去除上清，并且添加200μl DNA/RNA保护剂（1X），然后进行下面的纯化。
- ✧ 固体组织（PBMC,WBC）
 1. 添加≤600μl DNA/RNA保护剂（1X）到≤5mg的固体组织，进行匀浆。
 2. 每200μl样品加入10μl蛋白酶K，混合后室温（20-30℃）孵育≥30分钟（匀浆）或2-5小时（未匀浆）。
 3. 离心，将上清转移至干净的无酶离心管中，进行后续的核酸纯化操作。

- ✧ 血细胞（需将细胞重悬与DNA/RNA保护剂（1X）中）
 1. 添加200μl的DNA/RNA保护剂（1X）到≤0.5 ml血细胞重悬液（≤106cells）中。
 2. 每200μl样品加入10μl蛋白酶K。
 3. 混合后室温（20-30℃）孵育≥30分钟。
 4. 孵育后，涡旋样品，离心2分钟。将200μl的上清转移到无核酸酶管（未提供）。继续进行核酸纯化操作。
- ✧ 全血
 1. 将200μl DNA/RNA保护剂（2X）加入到每200μl新鲜或冷冻血液样本中，并充分混合。
 2. 每400μl上述混合物中加入8μl蛋白酶K混合均匀。室温（20-30℃）孵育30分钟。
 3. 孵育后，涡旋样品，离心2分钟。将上清转移到无核酸酶管（未提供）。
 4. 加入等体积的异丙醇（1:1），混合均匀。
 5. 将800μl样品混合物转移到新的板/管中，进行总核酸纯化。
- ✧ 环境样品（土壤，粪便，植物，拭子等）

添加20mg以内样品到800μl DNA/RNA保护剂（1X）中，涡旋振荡。（可选配我公司裂解管），离心后转移200μl上清液到一个新的管子里。继续进行后续的核酸纯化操作。

样品纯化

- ✧ 方案A DNA和RNA共同提取
 1. 取200μl DNA/RNA裂解液添加到上述200μl混合物中，混匀。
 2. 取等体积的无水乙醇（95-100%）400μl添加到上一步的混合物中，混匀。
 3. 取振荡混匀的磁珠30μl添加到上述混合物中，用枪头混匀或者放振荡器上振荡15-20分钟。
 4. 将离心管或板子放到磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管从磁力架上移走。
 5. 添加500μl磁珠DNA/RNA洗涤液1到样品中混匀。
 6. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
 7. 添加500μl磁珠DNA/RNA洗涤液2到样品中混匀。
 8. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
 9. 添加500μl无水乙醇（95-100%）到样品中混匀。
 10. 将管子转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。
 11. 重复步骤9，10
 12. 室温下放置10分钟自然晾干磁珠。（避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率）
 13. 添加最少50μl的DNA/RNA洗脱液到管中重悬磁珠，混匀磁珠，然后将管子移到一个磁力架上，放置2-3分钟直到磁珠完全沉淀下来。将上清（DNA和RNA）转移到一个干净管子内。
- ✧ 方案B DNA或RNA分别纯化步骤
 1. 直接添加500μl（2.5倍体积）的DNA/RNA裂解液到200μl样品里混匀。
 2. 取振荡混匀的磁珠30μl添加到上述混合物中，用枪头混匀或者放振荡器上振荡15-20分钟。
 3. 此时DNA已经结合到磁珠上，RNA保持在上清中。将离心管或板子放到磁力架上，直到磁珠沉淀下来，将上清转移到一个干净的离心管中。针对提取DNA或RNA采取下述步骤分别提取。

DNA提取 (磁珠内)	RNA提取 (上清内)
4. 将管子从磁力架上移走, 添加500μl磁珠DNA/RNA洗涤液1到样品中, 混匀。 5. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 6. 添加500μl磁珠DNA/RNA洗涤液2到样品中混匀。 7. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 8. 添加500μl无水乙醇 (95-100%) 到样品中混匀。 9. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 10. 重复步骤8, 9 11. 室温下放置10分钟自然晾干磁珠。(避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率) 12. 添加最少50μl的DNA/RNA洗脱液到管中 重悬磁珠, 混匀磁珠, 然后将管子移到一个磁力架上, 放置2-3分钟直到磁珠完全沉淀下来。将上清 (DNA) 转移到一个干净管子内。	4. 取等体积的无水乙醇 (95-100%) 700μl添加到上一步的上清中。 5. 取振荡混匀的磁珠30μl添加到上述混合物中, 混匀并震荡15-20分钟。 6. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。 7. 将管子从磁力架上移走, 添加 500 μl 磁珠DNA/RNA洗涤液1到样品中, 混匀。 8. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 9. 添加500μl磁珠DNA/RNA洗涤液2到样品中混匀。 10. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 11. 添加500μl无水乙醇 (95-100%) 到样品中混匀。 12. 将管子转移到一个磁力架上, 直到磁珠沉淀下来, 吸弃上清液。将管子从磁力架上移走。 13. 重复步骤8, 9 14. 室温下放置10分钟自然晾干磁珠。(避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率) 15. 添加最少50μl的DNA/RNA洗脱液到管中重悬磁珠, 混匀磁珠, 然后将管子移到一个磁力架上, 放置2-3分钟直到磁珠完全沉淀下来。将上清 (RNA) 转移到一个干净管子内。

参考得率

Input	Average gDNA Yield	Average RNA Yield	Kit Capacity
Cells	0.4 μg (per 10 ⁵ cells)	1 μg (per 10 ⁵ cells)	Up to 10 ⁶
HeLa	0.6 μg	1.5 μg	
High Yield Tissue¹ (mouse)	≥ 3 μg (per 1 mg)	≥ 3 μg (per 1 mg)	Up to 2 mg
Spleen	5-7 μg	3-5 μg	
Liver	1.5-3 μg	4-6 μg	
Low Yield Tissue¹ (mouse)	≤ 3 μg (per 1 mg)	≤ 3 μg (per 1 mg)	Up to 5 mg
Brain, Heart	0.5-1.5 μg	0.5-1.5 μg	
Muscle	0.5-1.5 μg	0.5-2 μg	
Lung	1.5-3 μg	1-2 μg	
Intestine	1.5-3 μg	1-3 μg	
Kidney	1.5-3 μg	2-3 μg	
Whole Blood²	(per 100 μl)	(per 100 μl)	Up to 200 μl
Porcine	0.5-1 μg	1-2 μg	
Human	0.2-0.5 μg	0.2-1 μg	