

环境样品通用 DNA/RNA 提取试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.1.3.0)

产品特点

- ◇ 可从粪便，土壤，水样，生物膜，拭子，唾液，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，原生物，藻类，真菌，病毒。
- ◇ 获得的 DNA/RNA，产量高、纯度好，可以直接用于高通量测序等下游分子生物学实验。

产品货号:

TR202- 10 (10 次反应) TR202- 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	2
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
裂解管 (0.1&0.5mm)	10 个	50 个	室温
DNA/RNA 保护剂 (2X)	10 ml	50 ml	室温
DNA/RNA 裂解液	10 ml	50 ml	室温
DNA/RNA 预洗液	10 ml	2X25 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液	24 ml	2X24 ml	室温
抑制物去除液	18 ml	3X30 ml	室温
无DNase/RNase 水	6 ml	30 ml	室温
DNase I(选配)	50U	250U	-20°C
DNA 消化液(选配)	1 ml	4 ml	室温
蛋白酶 K 套装 (选配)	---	5mg+500 μ l	-20°C
抑制物去除柱	10 个*2	50 个*2	室温
3 号 Y 纯化柱(黄)	10 个	50 个	室温
3 号 CG 纯化柱(绿)	10 个	50 个	室温
2ml 收集管	40 个	300 个	室温

注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或 pH 值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

产品特性

- ◇ 样品: 可有效地从 200mg 以内的哺乳动物粪便, 250mg 以内土壤, 200mg 以内植物/种子和 50-100mg (湿重) 的真菌细菌细胞, 生物膜和水样中有效地提取到细菌, 真菌, 原生生物, 病毒, 线粒体和宿主 RNA。
- ◇ 纯度: 获得的 DNA/RNA 产量高、纯度好, $A_{260}/A_{280} > 1.8$, $A_{260}/A_{230} > 1.8$, 提供 DNase I 去除痕量的 DNA, 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 DNA 和 ≥ 17 核苷酸的 RNA。
- ◇ 产量: 3号 CG 纯化柱(绿) 的最大结合能力为 100 μ g。

溶液制备

DNA/RNA 洗涤液在使用前需按要求配制, 添加乙醇后应在试剂瓶上做好标记!

需要添加 96ml 100% 的乙醇 (或 104ml 95% 乙醇) 到 24ml 的 DNA/RNA 洗涤液中
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 $^{\circ}$ C) 离心 30 秒, 如无特殊说明。

1. 直接添加样品到裂解管中, 然后添加 750 μ l 的 DNA/RNA 保护剂到裂解管中, 拧紧盖子防止泄漏,

样品类型	最大输入量
粪便	200mg
土壤	250mg
植物/种子	200 mg
液体样品	250 μ l
细胞 (重悬在 DNA/RNA 保护剂中或 PBS 等液体中)	50-100 mg (2x10 ⁹ 细菌, 2x10 ⁸ 酵母细胞, 2x10 ⁷ 哺乳动物细胞/动物细胞)
样本保存液配套产品	750 μ l

如果样品已经保存在添加了 DNA/RNA 保护剂的耗材中, 则直接进行第二步。

2. 在涡旋仪上最大速下振荡5分钟混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）
3. 离心裂解管5分钟。
4. 将上一步所得上清（最多400 μ l）加到一个干净的无DNase/RNase 水的离心管里。
5. 直接添加2倍体积的DNA/RNA裂解液（~800 μ l）到离心管里混匀。

(II) 核酸纯化

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。

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. 添加等体积的乙醇（95%-100%）~1200 μ l 混匀。
2. 将上述混合物放入套在收集管上的3号Y纯化柱(黄)里，离心。去除滤出液。
3. 添加400 μ l的DNA/RNA预洗液到3号Y纯化柱(黄)里，离心。去除滤出液。
4. 添加400 μ l的DNA/RNA洗涤液到3号Y纯化柱(黄)里，离心。去除滤出液。将纯化柱放入一个干净的1.5ml离心管内。
5. 在吸附膜的中间部位加100 μ l 无DNase/RNase 水，静置5分钟，离心洗脱粗提的总核酸（DNA和RNA）。
6. 添加2倍体积（~200 μ l）的DNA/RNA裂解液到粗提的总核酸中，混匀。
7. 添加等体积的乙醇（95%-100%）~300 μ l，混匀。
8. 将混合物添加到一个放入套在收集管上的3号CG纯化柱(绿)里，离心。去除滤出液。
9. 添加400 μ l的DNA/RNA预洗液到3号CG纯化柱(绿)里，离心。去除滤出液。
10. 添加700 μ l的DNA/RNA洗涤液到3号CG纯化柱(绿)里，离心。去除滤出液。
11. 添加400 μ l的DNA/RNA洗涤液到3号CG纯化柱(绿)里，离心2分钟完全去除洗涤液残留。
12. 取出3号CG纯化柱(绿)，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加100 μ l 无DNase/RNase 水，静置5分钟，离心洗脱总核酸（DNA和RNA）。
13. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加600 μ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000$ x g下离心3分钟。
14. 将洗脱的总核酸放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内，并在16,000 x g下离心3分钟，得到的总核酸可进行后续试验。

方案 B DNA 或 RNA 分别纯化步骤

1. 将上述混合物~1200 μ l放入套在收集管上的3号Y纯化柱(黄)里，离心。保存滤出液用于RNA提取。保存纯化柱用于DNA提取。纯化柱的最大承载体积是800 μ l，上述混合物需要分2次离心。

DNA提取	RNA提取
2. 将3号Y纯化柱(黄) 套在一个新的收集管。	2. 添加等体积的乙醇 (95%-100%) ~1200 μ l 混匀。将上述混合物放入套在收集管上的 3 号CG 纯化柱(绿) 里, 纯化柱的最大承载体积是 700 μ l, 反复离心。去除滤出液。 (此步骤之后可选做DNase I 处理)

3. 添加400 μ l的DNA/RNA预洗液到纯化柱里, 离心。去除滤出液。
4. 添加700 μ l的DNA/RNA洗涤液到纯化柱里, 离心。去除滤出液。
5. 添加400 μ l的DNA/RNA洗涤液到纯化柱里, 离心。去除滤出液。将纯化柱放入一个干净的1.5ml离心管内。
6. 在吸附膜的中间部位加100 μ l 无DNase/RNase 水, 静置5分钟, 离心洗脱DNA或RNA。
7. 将抑制物去除柱套在一个收集管内, 添加600 μ l的抑制物去除液, 在 $\geq 8,000 \times g$ 下离心3分钟。
8. 将洗脱的DNA或RNA放入制备好的抑制物去除柱内, 抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内, 并在16,000 $\times g$ 下离心3分钟, 得到的总核酸可进行后续试验。

DNase I处理 (选做)

1. 在RNA提取第2步后, 添加400 μ l的DNA/RNA洗涤液到柱里, 离心。去除滤出液。
2. 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)。
3. 添加80 μ l的DNase I体系到柱基质上, 然后在室温下 (20-30 $^{\circ}$ C) 孵育15分钟。然后进行下面的步骤完成RNA的提取。

备注: 样品可稳定在DNA/RNA保护剂中, DNA/RNA保护剂可有效裂解细胞, 灭活各种传染物质并且在常温下运输和提取核酸。液体样本: 等体积混合DNA/RNA保护剂(2X)。固体样品: 添加DNA/RNA保护剂 (1X) 浸没样品, 样品不要超过10%体积的DNA/RNA保护剂。如果DNA/RNA保护剂无特别标注则浓度为1X, 如果需要长期保存样品, 推荐匀浆保存在DNA/RNA保护剂中的样本, 然后再放入冰箱中长期保存。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存
裂解管 (0.1&0.5mm)	TS6012-10	10 个	室温
	TS6012-50	50 个	
DNA/RNA 保护剂 (2X)	TR120-10	10ml	室温

	TR120-50	50ml	
DNA/RNA裂解液	TD7001-1-10	10ml	室温
	TD7001-1-50	50ml	
DNA/RNA 预洗液	TD7010-2-10	10ml	室温
	TD7010-2-25	25ml	
DNA/RNA洗涤液	TD7010-3-24	24 ml	室温
抑制物去除液	TD6035-1-18	18ml	室温
	TD6035-1-30	30ml	
无DNase/RNase水	TW1001-6	6ml	室温
	TW1001-30	30ml	
DNase I(选配)	E1009-A-S	50U	-20°C
	E1009-A	250U	
DNA消化液(选配)	TE1010-1-1	1ml	室温
	TE1010-1-4	4ml	
蛋白酶K套装 (选配)	TD3001-2-A	5mg	-20°C
	TD3001-2-C	500µl	
抑制物去除柱	TC1058-10	10 个/包	室温
	TC1058-50	50 个/包	
3号 Y 纯化柱(黄)	TC1006-10-F	10 个/包	室温
	TC1006-50-F	50 个/包	
3号 CG 纯化柱(绿)	TC1006-10-G	10 个/包	室温
	TC1006-50-G	50 个/包	
2ml 收集管	TC1001-40	40 个/包	室温
	TC1001-50	50 个/包	
	TC1001-200	200 个/包	