

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:

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

简石生物 • Tel: +86-10-58235289 • https://jianshibio.com

目录 Contents

产品组份	1
注意事项	1
	<u>-</u>
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	250µl	1 ml	-20 °C
(20mg/ml)	200μ1		20 0
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 °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

- ◆ 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 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地提取到基因组 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≥17nt 以上核酸 RNA。
- → 产量:每 10μI 磁珠最大结合能力为 100μg。

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 275μI 的无 DNase/RNase 水,终浓度为 1U/μI。

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

(1) 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。

1. 直接添加样品到裂解管中,然后添加750µl的DNA/RNA保护剂(EZshield)®到裂解管中,

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	250µl~2ml
细胞(重悬在DNA/RNA保护剂	50-100 mg(2x10 ⁹ 细菌,2x10 ⁸ 酵母细
(EZshield)®中或PBS等液体内)	胞, 2x10⁷哺乳 动物细胞) ————————————————————————————————————
样本保存液配套产品	750µl

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)®的相应储存容器中,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 45s, 2Cycles

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200µl(最多500µl)加到一个干净的无DNase/RNase的离心管里。
- 5. 每200µl上清加入10µl蛋白酶K,室温情况下,使用台式混样器或者涡旋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: 210µl 消化混合物加入 200µl DNA/RNA 裂解液)
- 2. 添加等体积无水乙醇充分混匀,添加20μl磁珠混悬液,充分混匀,可使用台式混样器,混悬磁 珠≥15min。
- 3. 将离心管放置于磁力架上,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. 将离心管从磁力架上取下,加入500μl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500μl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500µl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50μl~100μl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:210μl消化混合物加入500μl DNA/RNA裂解液),充分混匀,加入30μl磁珠,可使用台式混样器,混悬磁珠≥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	向干净的上清添加等体积的无水乙醇,充分混匀,加	
一步纯化洗涤。	入30µI磁珠,可使用台式混样器,混悬磁珠≥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500µl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500μl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500µl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)。
- 8. 在磁珠中间部位加50µl~100µl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)

- 1. 在RNA提取第2步后,添加400µI的磁珠DNA/RNA洗涤液2冲洗磁珠,放回磁力架,去除废液。
- 2. 针对每一次提取配制 80μl的DNase I反应体系(75μl 的DNA消化液和5μl的DNase I溶液)。 注:上述DNase I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。
- 3. 添加80μl 的DNase l体系到磁珠上,然后在室温下(20-30℃)孵育15分钟。然后进行之后的 步骤完成RNA的提取。

组件查询

	货号	规格	储存
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-0.25	250µl	-20 °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	安阳
	TD7001-1-50	50ml	室温
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 1	TR2130-1-3	3ml	空油
	TR2130-1-15	15ml	室温
磁珠 DNA/RNA 洗涤液 2	TR2130-2-4	4 ml	空油
	TR2130-2-20	20ml	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-1	1ml	
	TW1001-5	5ml	室温
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	
磁珠	TD4100-2-1	1ml	室温
	TD4100-2-5	5ml	
裂解管(0.1&0.5mm)	TS6012-10	10 个/包	
	TS6012-50	50 个/包	室温