

DNA/RNA提取试剂盒（D/R S血液保存管）

（使用说明书 Ver.1.0.7）

产品说明

- ◇ 本试剂盒是针对用DNA/RNA保护剂血液保存管后续DNA/RNA提取设计的。
- ◇ 无需离心等去除保护剂的步骤即可进行DNA/RNA的提取。
- ◇ 纯化得到的DNA和RNA（含small/microRNA）可用于高通量测序等实验。

产品货号：
TR151 -50



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
DNA提取步骤	2
RNA提取步骤	3
DNA/RNA共同提取步骤	3
组件查询	4

产品组份

试剂盒组成	50次	保存
DNA/RNA预洗液	50 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	24ml 使用前按说明加指定量乙醇	室温
RNA 回收液	10ml	室温
DNA 回收液	9ml 使用前按说明加指定量乙醇	室温
无 DNase/RNase 水	6ml	室温
DNase I	250U	-20℃
DNA消化液	4ml	室温
蛋白酶K	125mg	-20℃
蛋白酶K保存液	14ml	-20℃
3号CG纯化柱(绿)	50个	室温
25ml 漏斗	2×25个	室温
2ml 收集管	2×50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

- ✧ 样品来源：针对保存在DNA/RNA保护剂血液保存管中的样品（3ml人或动物的全血）
- ✧ 样品保存：DNA/RNA保护剂可有效裂解细胞，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DNA和≥17nt的总RNA。
- ✧ 回收率：一般DNA的产量在15-30µg之间，RNA的产量在6-30µg(3ml人全血)。
- ✧ 所需设备：台式离心机，涡旋仪，真空多联器（推荐）。

溶液制备

- ✧ 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96ml100%的乙醇(或104ml95%的乙醇)到24ml的DNA/RNA洗涤液中。
- ✧ DNA回收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6ml（95-100%）的乙醇到9ml的DNA回收液中。
- ✧ 蛋白酶K
需添加6.5ml蛋白酶K保存液到蛋白酶K冻干粉中，蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml，之后放在-20℃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℃保存。

操作步骤

- ✧ 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。
- ✧ 所有步骤若无特殊说明都应该在室温下（20-30℃）下操作。操作步骤兼容真空多联器等负压装置。操作步骤分为DNA提取步骤，RNA提取步骤，DNA/RNA提取步骤。

DNA提取步骤

1. 将DNA/RNA保护剂血液保存管里的全部溶液（9ml）加到一个50ml离心管内。如果保存管处于冷冻状态，则在室温下解冻保存管。
2. 添加120μl蛋白酶K到待处理样本内混合并且涡旋振荡。在室温下（20-30℃）孵育30分钟。
3. 添加9ml的异丙醇混合并且涡旋振荡。
4. 将25ml漏斗插入3号CG纯化柱(绿)并且放到真空多联器上。将上述步骤的混合物直接倒入漏斗内，打开真空源，直到所有液体通过3号CG纯化柱(绿)。
*如果没有真空多联器，可通过反复填充700μl的混合物到3号CG纯化柱(绿)中离心过柱。
*蛋白酶K和异丙醇的用量可根据实际添加的样本量等比例调整。(如：3ml采血管溶液40μl蛋白酶K3ml异丙醇)
5. 去除25ml漏斗，并将3号CG纯化柱(绿)放到一个收集管内，离心去除残留的液体。
6. 添加400μl DNA/RNA预洗液到纯化柱中，离心，去除滤出液。
7. 添加200μl RNA回收液到纯化柱中，放置5分钟然后离心，去除滤出液。
8. 添加700μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中，离心。去除滤出液。
9. 添加400μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中，离心。去除滤出液。
10. 添加200μl DNA回收液到纯化柱中，离心2分钟以完全去除洗涤液的残留。将纯化柱放置到一个新的1.5ml离心管内。
11. 添加100μl 无DNase/RNase水到纯化柱基质中，放置5分钟，离心洗脱DNA(最少添加量为50μl)

RNA提取步骤

1. 将DNA/RNA保护剂血液保存管里的全部溶液（9ml）加到一个50ml离心管内。如果保存管处于冷冻状态，则在室温下解冻保存管。
2. 添加120μl蛋白酶K到待处理样本内混合并且涡旋振荡。在室温下（20-30℃）孵育30分钟。

3. 添加9ml的异丙醇混合并且涡旋振荡。
4. 将25ml漏斗插入3号CG纯化柱(绿)并且放到真空多联器上。将上述步骤的混合物直接到漏斗内, 打开真空源, 直到所有液体通过3号CG纯化柱(绿)。
*如果没有真空多联器, 可通过反复填充700μl的混合物到3号CG纯化柱(绿)中离心过柱。
*蛋白酶K和异丙醇的用量可根据实际添加的样本量等比例调整。(如: 3ml采血管溶液40μl蛋白酶K3ml异丙醇)
5. 去除25ml漏斗, 并将3号CG纯化柱(绿)放到一个收集管内, 离心去除残留的液体。
6. 添加400μl DNA/RNA预洗液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
柱上DNaseI消化处理(推荐)此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
 - 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80μl的DNaseI反应液。配比为 DNaseI--5μl, DNA消化液--75μl。
 - c) 直接添加80μl的DNase I反应液到纯化柱上, 在室温下(20-30℃)孵育15分钟。
7. 添加400μl DNA/RNA预洗液到纯化柱中离心, 去除滤出液。
8. 添加700μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
9. 添加400μl DNA/RNA洗涤液到纯化柱中离心2分钟以完全去除洗涤液的残留, 去除滤出液。
10. 将纯化柱放置到一个新的1.5ml离心管内, 在吸附膜的中间部位加100μl无DNase/RNase水, 离心洗脱RNA。

DNA/RNA共同提取步骤

1. 将DNA/RNA保护剂血液保存管里的全部溶液(9ml)加到一个50ml离心管内。如果保存管处于冷冻状态, 则在室温下解冻保存管。
2. 添加120μl蛋白酶K到待处理样本内混合并且涡旋振荡。在室温下(20-30℃)孵育30分钟。
3. 添加9ml的异丙醇混合并且涡旋振荡。
4. 将25ml漏斗插入3号CG纯化柱(绿)并且放到真空多联器上。将上述步骤的混合物直接到漏斗内, 打开真空源, 直到所有液体通过3号CG纯化柱(绿)。
*如果没有真空多联器, 可通过反复填充700μl的混合物到3号CG纯化柱(绿)中离心过柱。
*蛋白酶K和异丙醇的用量可根据实际添加的样本量等比例调整。(如: 3ml采血管溶液40μl蛋白酶K3ml异丙醇)
5. 去除25ml漏斗, 并将3号CG纯化柱(绿)放到一个收集管内, 离心去除残留的液体。
6. 添加400μl DNA/RNA预洗液到纯化柱中, 离心, 去除滤出液。
7. 添加200μl RNA回收液到纯化柱中, 放置5分钟然后离心, 保存滤出液

DNA提取步骤 (DNA结合在纯化柱上)	RNA提取步骤 (RNA在上一步的滤出液中)
8. 将3号CG纯化柱(绿)放到一个新的收集管内。	8.添加等体积的乙醇(95-100%)到上步的滤出液中, 混匀, 将混合物添加到CG纯化柱(绿)中, 纯化柱放到一个新的收集管内, 离心, 去除滤出液。(可采用柱上DNaseI消化方式)
9. 添加700μlDNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。	9.添加400μlDNA/RNA预洗液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
10. 添加400μlDNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。	10.添加700μlDNA/RNA洗涤液到纯化柱中, 离心。去除滤出液。
11. 添加200μlDNA回收液到纯化柱中, 离心2分钟以完全去除洗涤液的残留。将纯化柱放置到一个新的1.5ml离心管内。	11.添加400μlDNA/RNA洗涤液到纯化柱中离心2分钟以完全去除洗涤液的残留, 去除滤出液。将纯化柱放置到一个新的1.5ml离心管内。

12. 添加100μl无DNase/RNase水到纯化柱基质中, 放置5分钟, 离心分别洗脱DNA和RNA。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
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
RNA回收液	TR1070-1-10	10ml	室温
DNA回收液	TD2050-5-9	9ml	室温
无DNase/RNase水	TW1001-6	6ml	室温
DNase I	TE1009-A	250U	-20℃
DNA消化液	TE1010-1-4	4ml	室温
蛋白酶K	TD3001-2-F	125mg	-20℃
蛋白酶K保存液	TD3001-2-E	14ml	-20℃
3号CG纯化柱(绿)	TC1006-50-G	50个/包	室温
25ml 漏斗	TC1039-25	25个/包	室温
2ml 收集管	TC1001-50	50个/包	室温