

血清/血浆游离 DNA/RNA 提取试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.1.1.3)

产品亮点

- ✧ 可从 3ml 以内的血清/血浆或其它液体样品中提取到高纯度的游离 DNA 和/或游离 RNA。
- ✧ 获得的 DNA 和 RNA 产量高、纯度好，可以直接用于高通量测序等分子生物学实验。
- ✧ 和同类产品比较，该试剂盒的结合体系最多可回收得到 515x microRNA。

产品货号：

TR172- 10（10 次反应） TR172- 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	1
溶液制备	2
操作步骤	2
✧ 平行提取游离 DNA 和游离 RNA	2
✧ 游离 DNA 和游离 RNA 共同提取	3
✧ 附录 1	5
组件查询	6

产品组份

试剂盒组成	10 次	50 次	保存
蛋白酶 K 溶液	1.6ml	8 ml	-20℃
游离核酸消化液	30ml	150 ml	室温
游离核酸结合液	60ml	2x150 ml	室温
游离核酸回收液	4ml	20 ml	室温
游离核酸洗涤液 1	20 ml	100 ml	室温
游离核酸洗涤液 2	6ml	3x12 ml	室温
无DNase/RNase水	2 ml	10 ml	室温
1 号 C 纯化柱	10 个*2	50 个*2	室温
25ml 漏斗	10 个	25 个*2	室温
3 号 Y 纯化柱(黄)	10 个	50 个	室温
2ml 收集管	---	200 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

- ✧ 样品种类: 最多 3ml 的血清，血浆，羊水，脑脊液（CSF），尿液等液体样本。
- ✧ 纯度: 获得的游离 DNA 和游离 RNA 可以直接用于 qPCR ,高通量测序等各种分子生物学实验。
- ✧ 片段大小: DNA≥50bp, RNA≥17nt。

- ◇ 产量：本试剂盒针对无细胞的游离核酸提取经过优化，总量根据不同的样品个体差异可能会比较大。一般从血清或血浆中提取到的游离 DNA 和游离 RNA 的浓度在 1-100 ng/ml。
- ◇ 需要的仪器设备：水浴锅或者金属浴。微型离心机，负压多联器或立式离心机。
- ◇ 操作时间：一般 30-45 分钟可以处理 10 个样品。样品消化步骤需要 2 个小时。

溶液制备

使用前需要添加 48 ml 95-100%的乙醇到 12ml 的游离核酸洗涤液中。

操作步骤：

平行提取游离 DNA 和游离 RNA

所有的离心步骤均在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心 30 秒除非特殊说明。一般常温 (20-30°C) 进行以下操作步骤。

1. 在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200 μ l样品（血浆，血清或其他生物液体样品）添加 200 μ l游离核酸消化液，将其放入一个15ml的离心管中，混匀。如果样品体积 ≥ 1.5 ml，则需要使用50ml的离心管。
3. 按照每200 μ l样品添加10 μ l的蛋白酶K溶液，涡旋混匀10秒，37°C下孵育2小时。
4. 添加1体积的游离核酸结合液到已消化的样品中，并涡旋混匀10秒。（例如，向400 μ l结合液到410 μ l的消化样品中。）
5. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤4中的混合物中，涡旋混匀10秒。
(例如1.2ml的异丙醇到810 μ l的混合物中。)

快速操作表格

样品体积	200 μ l	500 μ l	1 ml	3 ml (最大)
游离核酸消化液	200 μ l	500 μ l	1 ml	3 ml
蛋白酶 K	10 μ l	25 μ l	50 μ l	150 μ l
涡旋混匀并且在 37°C下孵育 2 小时				
游离核酸结合液	400 μ l	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 将 25ml 漏斗套到 3 号 Y 纯化柱(黄)内，连接紧密后放置在负压多联器上。
7. 倒入上述步骤 6 的混合液，打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后，关闭真空泵并拔掉连接的 25ml 漏斗。
8. 倒入 600 μ l，游离核酸洗涤液 1 到纯化柱上，打开真空开关，让液体完全通过 3 号 Y 纯化柱(黄)，关闭真空泵。

9. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在 2ml 收集管上, 然后放置在台式离心机上全速离心 2 分钟以去除液体残留, 然后将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个干净的 1.5ml 离心管内。
10. 添加 200μl 的游离核酸回收液到 3 号 Y 纯化柱(黄) 中, 室温放置 3 分钟, 离心, 保存滤出液。

滤出液: 游离 RNA 分离	3 号 Y 纯化柱(黄) : 游离 DNA 分离
A1. 添加 300μl 乙醇 (95-100%) 到滤出液中, 混匀 A2. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。 A3. 离心去除滤出液。 A4. 继续步骤 11。	B1. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个新的 2ml 收集管上。 B2. 添加 600μl 的游离核酸洗涤液 1, 离心去除滤出液。 B3. 添加 700μl 的游离核酸洗涤液 2, 离心去除滤出液。 B4. 重复一次步骤 B3。 B5. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个新的离心管内。 B6. 添加 100μl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上, 室温下放置 2 分钟然后离心, 去除 3 号 Y 纯化柱(黄) 。 B7. 添加 200μl 的游离核酸回收液到上述离心管内, 混匀 B8. 添加 300μl 无水乙醇 (95-100%) 到离心管内, 混匀 B9. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。离心去除滤出液。 B10. 继续步骤 11。

11. 添加 400μl 的游离核酸洗涤液 1, 离心去除滤出液。
12. 添加 700μl 的游离核酸洗涤液 2, 离心去除滤出液。
13. 添加 400μl 的游离核酸洗涤液 2 到 1 号 C 纯化柱中, 离心 2 分钟完全去除纯化柱上残留的液体, 将 1 号 C 纯化柱转移到一个干净的离心管内。
14. 添加 15μl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上, 放置 2 分钟然后离心来洗脱游离 DNA 或游离 RNA。

游离DNA和游离RNA共同提取

所有的离心步骤均在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心 30 秒除非特殊说明。

一般常温 (20-30°C) 进行以下操作步骤。

1. 在 $\geq 12,000 \times g$ 的离心力下离心样品15分钟来去除细胞杂质和沉淀。
2. 按照每200μl样品 (血浆, 血清或其他生物液体样品) 添加 200μl游离核酸消化液, 放入一个 15ml 的离心管, 混匀。如果样品体积 $\geq 1.5\text{ml}$, 则需要试用50ml 的离心管。
3. 按照每200μl样品添加10μl的蛋白酶K溶液, 涡旋混匀10秒, 37°C下孵育2小时。

4. 添加1体积的游离核酸结合液到消化的样品中并且涡旋混匀10秒。（例如400μl结合液到410μl的消化样品中。）
5. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤4中的混合物中，涡旋混匀10秒。
（例如1.2ml的异丙醇到810μl的混合物中。）

快速操作表格

样品体积	200 μl	500 μl	1 ml	3 ml（最大）
游离核酸消化液	200 μl	500 μl	1 ml	3 ml
蛋白酶 K	10 μl	25 μl	50 μl	150 μl
涡旋混匀并且在 37°C下孵育 2 小时				
游离核酸结合液	400μl	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 将 25ml 漏斗套到 3 号 Y 纯化柱(黄) 内，连接紧密后放置在负压多连器上。
7. 倒入上述步骤 6 的混合液，打开真空开关使液体完全通过纯化柱。确保液体完全通过纯化柱并且没有残留液体下流后，关闭真空泵并拔掉连接的 25ml 漏斗。
8. 倒入 600μl 游离核酸洗涤液 1 到纯化柱上，打开真空开关，让液体完全通过 3 号 Y 纯化柱(黄)，关闭真空泵。
9. 将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在 2ml 收集管上，然后放置在台式离心机上全速离心 2 分钟以去除液体残留，然后将 3 号 Y 纯化柱(黄) 套在一个干净的 1.5ml 离心管内。
10. 添加 100μl 的无 DNase/RNase 水到 3 号 Y 纯化柱(黄) 中，室温放置 2 分钟，离心，去除 3 号 Y 纯化柱(黄) 。
11. 添加 200μl 的游离核酸回收液到上述离心管内，混匀
12. 添加 450μl 无水乙醇（95-100%）到离心管内，混匀
13. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的 2ml 收集管上。离心去除滤出液。
14. 添加 400μl 的游离核酸洗涤液 1，离心去除滤出液。
15. 添加 700μl 的游离核酸洗涤液 2，离心去除滤出液。
16. 添加 400μl 的游离核酸洗涤液 2 到 1 号 C 纯化柱中，离心 2 分钟完全去除纯化柱上残留的液体，将 1 号 C 纯化柱转移到一个干净的离心管内。
17. 添加 15μl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上，放置 2 分钟然后离心来洗脱游离核酸（游离 DNA 和游离 RNA）。

附录1：处理保存在DNA/RNA 保护剂中的样品

对于保存在DNA/RNA保护剂(货号TR120)中的无细胞生物样品。采用下述改进的步骤进行操作。

- 1. 每1ml的DNA/RNA溶液的样品，添加25µl的蛋白酶K溶液，涡旋混匀10秒，37℃下孵育2小时。
(例如：500µl的无细胞体液与500µl的DNA/RNA 保护剂的混合液，需添加25µl蛋白酶K)
- 2. 添加1体积的游离核酸消化液到上述消化的样品中并且涡旋混匀10秒。
(例如1ml游离核酸结合液到1ml的消化样品中)
- 3. 添加1体积的游离核酸结合液到步骤2的混合物中，并涡旋混匀10秒。
(例如2ml游离核酸结合液到2ml的混合物中)
- 4. 添加1.5倍体积的100%的异丙醇到步骤3中的混合物中，涡旋混匀10秒。
(例如6ml的100%异丙醇到4ml的混合物中)

快速操作表格

样品体积(含保护剂)	200 µl	500 µl	1 ml	3 ml (最大)
蛋白酶 K	5 µl	12.5 µl	25 µl	75 µl
涡旋混匀并且在 37℃下孵育 2 小时				
游离核酸消化液	200µl	500µl	1 ml	3 ml
游离核酸结合液	400µl	1 ml	2 ml	6 ml
100%异丙醇	1.2ml	3 ml	6 ml	18 ml
总体积	2 ml	5 ml	10 ml	30 ml

6. 接下来按照主操作步骤的第 6 步进行游离 DNA，游离 RNA，或者总游离核酸进行提取。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存
蛋白酶 K 溶液	TD3001-2-1.6	1.6ml	-20℃
	TD3001-2-8	8ml	
游离核酸消化液	TR1072-1-30	30ml	室温
	TR1072-1-150	150ml	
游离核酸结合液	TR1072-2-60	60ml	室温
	TR1072-2-150	150ml	
游离核酸回收液	TR1072-3-4	4ml	室温
	TR1072-3-20	20ml	
游离核酸洗涤液1	TR1072-4-20	20 ml	室温
	TR1072-4-100	100ml	
游离核酸洗涤液 2	TR1072-5-6	6ml	室温
	TR1072-5-12	12ml	
无DNase/RNase水	TW1001-2	2ml	室温
	TW1001-10	10ml	
1号C纯化柱	TC1004-10	10 个/包	室温
	TC1004-50	50 个/包	
25ml漏斗	TC1039-10	10 个/包	室温
	TC1039-25	25 个/包	
3号Y纯化柱(黄)	TC1006-10-F	10 个/包	室温
	TC1006-50-F	50 个/包	
2ml 收集管	TC1001-200	200 个/包	室温