Version 26.16

YALEPIC® 血液基因组 DNA 小量提取试剂盒（不含 RNase A）
YALEPIC® Blood Genomic DNA Mini Isolation Kit（No RNase A）

产品货号： YC22004

产品保存及运输条件:

常温运输；10 ~ 30℃ 室温保存。

产品概述

YALEPIC® Blood Genomic DNA Mini Isolation Kit（No RNase A） 适用于从 0.1 ~ 1 ml 新鲜或冷冻的抗凝全血、淋巴细胞等样本中提取总 DNA(包括基因组 DNA，线粒体 DNA 及病毒 DNA)。本试剂盒采用硅胶膜纯化技术，具有提取效率高、核酸纯度高、重复性强等优点，最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染，提取纯化的基因组 DNA 纯度高，质量稳定，可用于酶切、PCR、Southern 杂交等下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC22004（50 T）
①	RCL Buffer	125 ml
②	YR Buffer	15 ml
③	YG Buffer	15 ml
④	Wash Buffer GA	13 ml
⑤	Wash Buffer GB	16 ml
⑥	YGE Buffer	15 ml
⑦	Proteinase K	1.2 ml
⑧	Pure Columns YM with Collection tubes	50 T

适用范围

0.1 ~ 1 ml 无核新鲜或冻存抗凝全血或 1 × 10^7 个白细胞；

5 ~ 20 μl 有核新鲜或冻存抗凝全血（样本为禽类、鸟类、两栖类等有核红细胞）

自备试剂及仪器

无水乙醇；恒温混匀仪或涡旋振荡仪；高速离心机；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 离心管；恒温水浴锅等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 样品应尽量新鲜且避免反复冻融，否则可能会导致 DNA 降解。
3. 首次使用 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 前，应按试剂瓶标签加入无水乙醇。
4. 使用前请检查 **YG Buffer** 中是否有晶体析出，如有晶体析出，可放置 56℃ 水浴锅使晶体溶解，混匀后方可使用。

实验流程

- **样本处理：**

1. 提取 200 μl 血液样品时，向离心管（自备）中加入样本后，可直接进行提取纯化实验。
2. 当血液样本量 < 200 μl 时，加入 **YR Buffer** 补足至 200 μl 后进行后续实验。
3. 当血液样本量 ≥ 200 μl 时，加入 1 ~ 2.5 倍体积的 **RCL Buffer**，缓慢涡旋或颠倒混匀，12,000 rpm 离心 1 min，小心吸弃上清液，如果沉淀中仍有红色，可以重复以上步骤一次，然后向沉淀中加入 200 μl **YR Buffer**，振荡彻底混匀后进行后续实验。
4. 如果处理血液样本为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血，其红细胞为有核细胞，血液样本量为 5 ~ 20 μl，可加入 **YR Buffer** 补足至 200 μl 后进行后续实验。
5. 如果下游实验对 RNA 敏感，可加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 DNase-Free 的 RNase A 溶液（YALI#YX27001），振荡混匀 15 s，室温放置 5 min。

- **提取纯化：**

1. 向以上溶液中加入 20 μl **Proteinase K**，混匀。
2. 加入 200 μl **YG Buffer**，振荡彻底混匀。（注：请勿将 Proteinase K 和 YG Buffer 进行预混）
3. 56℃ 孵育 10 min，其间颠倒混匀 3 ~ 5 次。（注：孵育时间超过 10 min 对产量无影响）
4. 加入 200 μl 无水乙醇（自备），颠倒混匀 3 ~ 5 次。瞬时离心，使管壁上的溶液收集到管底。
5. 将全部溶液加入收集管的吸附柱（**Pure Columns YM with Collection tubes**）中，每次不超过 750 μl 可分多次转入。12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μl **Wash Buffer GA**（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 s，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（注：若提取样品是小鼠或猴子等血红素难以除去的血液基因组，建议重复该步骤一次）

7. 向吸附柱中加入 500 µl **Wash Buffer GB**（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 s，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（注：如需提高 DNA 纯度，可重复该步骤一次）
8. 空管 12,000 rpm 离心 2 min，弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温 3 ~ 5 min，以彻底晾干。（注：乙醇残留会影响后续的酶促反应，应将吸附柱中残余的乙醇彻底去除）
9. 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free 离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50 ~ 200 µl **YGE Buffer** 或 ddH_2O，室温放置 2 ~ 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集溶液，- 20℃ 长期保存。

   注：

   1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用 ddH_2O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用 ddH_2O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0 ~ 8.5，pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。
   2) 如果要提高 DNA 浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤 9。
   3) YGE Buffer/ddH_2O 可在 56℃ 提前预热，滴加至膜中后，室温静置 2 ~ 5 min。

常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
吸附柱堵塞	1.样品量过多	调整样品投入量，并按不同体积对应提取方案进行提取。
	2.裂解不完全	在孵育期间增加颠倒混匀次数。
DNA 产量低	1.吸附柱堵塞	同上。
	2.血液样品保存不当、时间过长或反复冻融次数过多	尽量使用新鲜血液样品提取基因组。
	3.血液样品用量少	无核红细胞抗凝全血建议使用 100 μl 以上抗凝全血提取基因组；有核红细胞抗凝全血建议使用 5 μl 以上抗凝全血提取基因
	4.Proteinase K 保存不当导致其活性降低	更换新的 Proteinase K 进行消化反应。
	5.洗脱液 PH 问题	建议使用 YGE Buffer 洗脱；若用 ddH_2O 或其他洗脱液，确认洗脱液 pH 值在 7.0~8.5 之间。
	6.洗脱不充分	洗脱液需加至吸附柱膜中央位置，增加洗脱体积或增加洗脱次数。
	7.Wash Buffer GA、Wash Buffer GB 未添加无水乙醇	请参考试剂瓶标签说明加入正确体积的无水乙醇。
DNA 纯度低	1.样品裂解不充分	样品与 YG Buffer，振荡彻底混匀。请勿将 Proteinase K 和 YG Buffer 进行预混。
	2.杂蛋白污染	Wash Buffer GA 洗涤吸附柱时没有使用正确的离心转速。务必按照说明书用 Wash Buffer GA 洗涤。
	3.杂质离子污染	Wash Buffer GB 洗涤吸附柱时没有使用正确的离心转速。务必按照说明书用 Wash Buffer GB 洗涤。
	4.乙醇残留	空管晾干不充分，增加晾干时间。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断。