

# YALEPIC<sup>®</sup> 血液基因组 DNA 小量提取试剂盒 (不含 RNase A) YALEPIC<sup>®</sup> 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°C 室温保存。

## 产品概述

YALEPIC<sup>®</sup> 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、血浆、血清、血沉棕黄层、淋巴细胞、无细胞体液等样本中提取总 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  $1 \times 10^7$  个白细胞;

5 ~ 20  $\mu$ l 有核新鲜或冻存抗凝全血 (样本为禽类、鸟类、两栖类等含有核红细胞)

## 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°C 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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  时，加入 **YR Buffer** 补足至 200  $\mu\text{l}$  后进行后续实验。
3. 当血液样本量  $\geq$  200  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  **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  $\mu\text{l}$ ，可加入 **YR Buffer** 补足至 200  $\mu\text{l}$  后进行后续实验。
5. 如果下游实验对 RNA 敏感，可加入 4  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  **Proteinase K**，混匀。
2. 加入 200  $\mu\text{l}$  **YG Buffer**，振荡彻底混匀。（注：请勿将 Proteinase K 和 YG Buffer 进行预混）
3. 56°C 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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  **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  $\mu\text{l}$  **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  $\mu\text{l}$  **YGE Buffer** 或 ddH<sub>2</sub>O, 室温放置 2 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集溶液, -20°C 长期保存。

注:

- 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用 ddH<sub>2</sub>O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用 ddH<sub>2</sub>O 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<sub>2</sub>O 可在 56°C 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 $\mu$ l 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 $\mu$ l 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 <sub>2</sub> O 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。