

## YALEPIC® 多糖多酚植物基因组 DNA 提取试剂盒 (含 RNase A)

YALEPIC® Plant Genomic DNA Isolation Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich, RNase A)

### 产品货号

YC22015 (50T) ; (试) YC22015 (5T)

### 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® Plant Genomic DNA Isolation Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich, RNase A)

采用高效、专一结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲系统, 无需使用苯酚/氯仿等有机溶剂, 30 min 内即可从新鲜、干燥以及富含多糖多酚的植物样本中提取基因组 DNA, 线粒体 DNA 及叶绿体 DNA, 可纯化获得最大为 50 kb 的 DNA, 有效去除 PCR 和其他酶促反应的抑制剂。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

### 产品组分

序号	产品组分	YC22015	(试) YC22015
①	YPA Buffer	26 ml	3 ml
②	YPB Buffer	11 ml	1.5 ml
③	YPC Buffer	22 ml	6 ml
④	Wash Buffer GB	18 ml	7 ml
⑤	YGE Buffer	15 ml	1.5 ml
⑥	RNase A (10 mg/ml)	300 µl	35 µl
⑦	Pure Columns YM with Collection tubes	50 T	5 T

### 适用范围

≤ 100 mg 新鲜植物样本;

≤ 20 mg 干燥植物样本。



## 自备试剂及仪器

无水乙醇; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管; 研钵; 高速离心机; 恒温水浴锅; 涡旋振荡仪等。

## 实验准备及注意事项

1. 本实验涉及冷冻研磨, 请务必提前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等, 避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。
2. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
3. 避免液氮冻伤以及温差导致的离心管爆炸; 液氮研磨时防止样品融化, 及时补给液氮, 研磨后的样本如不立即进行下一步操作, 请置于  $-70^{\circ}\text{C}$  保存。
4. 首次使用前 **YPC Buffer**、**Wash Buffer GB** 前, 应按试剂瓶标签指示加入无水乙醇。试用装 (5T) 中 **YPC Buffer**、**Wash Buffer GB** 已含无水乙醇, 使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
5. 使用前请检查 **YPA Buffer** 和 **YPB Buffer** 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 **YPA**、**YPB Buffer** 置于  $56^{\circ}\text{C}$  水浴重新溶解。

## 实验流程

### ● 样本处理

1. 取植物新鲜组织约 100 mg 或干组织约 20 mg, 加入液氮充分研磨。(注: 样品处理量不要超过试剂盒兼容容量, 否则会导致样品裂解不充分; 对于水分含量多的样本, 如草莓、西瓜等可适量增加样本量)
2. 将研磨后的粉末收集置离心管 (自备) 中, 依次加入 400  $\mu\text{l}$  **YPA Buffer** 及 6  $\mu\text{l}$  **RNase A** (10 mg/ml), 涡旋振荡 1 min, 室温放置 10 min, 充分裂解。

**可选替代步骤:** 若想提高 DNA 得率, 可将研磨后的粉末收集置离心管 (自备) 中, 依次加入 400  $\mu\text{l}$  **YPA Buffer**、6  $\mu\text{l}$  **RNase A** (10 mg/ml), 涡旋振荡 1 min,  $65^{\circ}\text{C}$  水浴 10 min, 水浴期间颠倒混匀 2 ~ 3 次, 充分裂解。

注:

- 1) 使用涡旋振荡充分裂解组织, 裂解不完全会影响最终的 DNA 得率。
- 2) 请勿直接将 **YPA Buffer** 与 **RNase A** 混合。
3. 加入 130  $\mu\text{l}$  **YPB Buffer**, 混匀, 涡旋振荡 1 min。
4. 12,000 rpm 离心 5 min, 将上清移至新的离心管 (自备) 中。
5. 加入 1.5 倍体积的 **YPC Buffer** (使用前检查是否加入无水乙醇), 充分混匀。(注: 白色沉淀不影响后续实验)

### ● 柱式纯化

1. 将所得全部溶液加入已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YM with Collection tubes**) 中, 可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱放回管中。
2. 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 1 min, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。(注: 如吸附膜呈现绿色, 向柱中加入 50  $\mu\text{l}$  无水乙醇, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃去收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中) 重复本步骤一次。



3. 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 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)
4. 将吸附柱置 Nuclease-free 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50 ~ 100  $\mu$ l YGE Buffer, 室温放置 2 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集溶液, -20 $^{\circ}$ 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 4。
- 3) 如要增加产量, 可用新的 50 ~ 100  $\mu$ l YGE Buffer/ddH<sub>2</sub>O 进行洗脱。
- 4) YGE Buffer/ddH<sub>2</sub>O 可在 56 $^{\circ}$ C 提前预热, 滴加至膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min。
- 5) 如果所得 DNA 的量小于 1  $\mu$ g, 推荐用 50  $\mu$ l YGE Buffer 进行洗脱。

## 常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
柱子堵塞	1. 样品研磨裂解不充分	充分研磨, 加入裂解液后立即混匀
	2. 裂解物太粘稠	降低样品起始量, 避免处理过量
	3. 离心力太小	加大离心力
DNA 产量低	1. 处理样品过量, 裂解不完全	减少样品用量, 充分研磨。
	2. 吸附柱残留乙醇	空柱离心 2 min, 开盖放置几分钟, 使残留乙醇彻底挥发
	3. 洗脱不充分	1) 洗脱液需加至吸附柱的膜中央; 2) 增加洗脱体积或次数
DNA 溶液带颜色或膜上有色素残留	1. 样品起始量过多	减少样品起始量, 避免过量
下游结果不理想	1. 乙醇污染	确保空柱离心 2 min, 开盖放置几分钟, 使残留乙醇彻底挥发
	2. 硅基质膜成分脱落	将洗脱的基因组 DNA 溶液 12,000 rpm 再离心 1 min, 小心取上清使用

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断