



YALEPIC® 通用型基因组 DNA 提取试剂盒 (不含 RNase A)

YALEPIC® Universal Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A)

产品货号: YC22016 (50T) ; (试) YC22016 (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® Universal Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A) 适用于从新鲜/冷冻的动物组织、细胞、血液、细菌等多种样品中提取高质量 DNA。本试剂盒采用优化的裂解液及独特的缓冲体系使 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上, 纯化 DNA 片段分子量最大可至 50 kb, 提取过程中无需使用苯酚/氯仿等有毒溶剂, 无需乙醇沉淀。可最大限度地去除 RNA、杂蛋白、脂类及其他抑制性杂质, 提取的 DNA 可用于酶切、PCR、Real-Time PCR、印迹杂交、文库构建等多种下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC22016	(试) YC22016
①	YGT Buffer	15 ml	1.5 ml
②	YG Buffer	15 ml	1.5 ml
③	Wash Buffer GA	13 ml	4 ml
④	Wash Buffer GB	16 ml	7 ml
⑤	YGE Buffer	15 ml	1.5 ml
⑥	Proteinase K	1.2 ml	120 µl
⑦	Pure Columns YM with Collection tubes	50 T	5 T

适用范围

≤ 200 µl 无核新鲜或冻存的抗凝全血; 5 ~ 20 µl 有核新鲜或冻存的抗凝全血;
≤ 5 × 10⁶ 个培养细胞; ≤ 25 mg 动物组织; ≤ 3 × 10⁹ 个细菌; ≤ 5 × 10⁷ 个酵母菌。

自备试剂及仪器

无水乙醇; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管; 高速离心机; 恒温水浴锅; 涡旋振荡仪等。溶菌酶缓冲液 (配制方法: 20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA, pH 8.0; 1.2% Triton X-100。121°C 灭菌处理 20 min, 加入适量的 Lysozyme (YALI#YX27006), 使其终浓度为 20 mg/ml)。



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. 首次使用前 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB**, 应按试剂瓶标签加入无水乙醇。试用装 (5T) 中 **Wash Buffer GA**、**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。
3. 使用前请检查 **YGT**、**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。
4. 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。
5. 如提取基因组属于次生代谢产物或细胞壁厚的细菌培养物, 建议在对数生长期早期收集。
6. 如果提取样品为革兰氏阳性菌, 需配制**溶菌酶缓冲液**。

实验流程

● 样本处理

A. 血液及细胞样本

1. 取 $\leq 200 \mu\text{l}$ 血液样本于 1.5 ml 离心管 (自备) 中, 加 **YGT Buffer** 补足至 200 μl , 振荡混匀。
注:
 - 1) 哺乳动物抗凝血液 (无核红细胞), 可直接向 50 ~ 200 μl 新鲜或冷冻的抗凝血液样品中加入 **YGT Buffer** 补足至 200 μl 。
 - 2) 禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液, 其红细胞为有核细胞, 取 5 ~ 20 μl 新鲜或冷冻的抗凝血液样品, 加入 **YGT Buffer** 补足至 200 μl 。
 - 3) 如需去除 RNA, 可在上述溶液中加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)。
 - 4) 若血液样本 > 200 μl , 则加入 2 倍样本体积的红细胞裂解液 RBC Lysis Buffer (YALI#YX27003), 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。
2. 依次加入 20 μl **Proteinase K**, 200 μl **YG Buffer** 振荡混匀, 56°C 水浴 10 min。
3. 加入 200 μl 无水乙醇 (自备), 涡旋振荡充分混匀, 瞬时离心收集溶液。 (注: 如产生白色沉淀, 不影响后续实验)

B. 细胞样本

1. 细胞总量不可超过 5×10^6 个, 300 $\times g$ 离心 5 min 收集细胞, 弃上清液。 (注: 贴壁培养细胞应处理为细胞悬液, 可采用细胞刮或洁净吸头剥离, 或先用胰酶进行消化, 然后离心收集细胞)
2. 加入 200 μl **YGT Buffer**, 振荡至样品彻底悬浮。 (注: 如需去除 RNA, 可加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液, 涡旋振荡 15 s, 室温放置 2 min)
3. 依次加入 20 μl **Proteinase K**, 200 μl **YG Buffer** 振荡混匀, 56°C 水浴 10 min。
4. 加入 200 μl 无水乙醇 (自备), 涡旋振荡充分混匀, 瞬时离心收集溶液。 (注: 如产生白色沉淀, 不影响后续实验)

C. 动物组织样本

1. 样本取材: 取 25 mg 组织 (脾组织用量应少于 10 mg); 如果材料为鼠尾, 取一段长度为 0.4 ~ 0.6 cm 的大鼠鼠尾或两段长度为 0.4 ~ 0.6 cm 的小鼠鼠尾。 (注: 确保各组织的量不要超



出推荐范围。样本过量会降低 DNA 产量和纯度。脾脏及肾脏等样本富含 DNA，取样应小于 10 mg。肌肉和皮肤等样品 DNA 含量低的组织，取样可扩大至 25 mg)

- 1) 样本进行液氮研磨或切成小块后置于 1.5 ml 离心管中 (自备)，加入 180 μ l **YGT Buffer**，将不同样品做好标记。
- 2) 可选：若使用匀浆器处理样本，匀浆前向样本中加入不超过 80 μ l **YGT Buffer**，匀浆后加 100 μ l **YGT Buffer**。
2. 加入 20 μ l **Proteinase K**，涡旋振荡使样品彻底混匀。56°C 水浴，直至组织完全裂解，孵育过程中可每隔一段时间颠倒或振荡离心管使样品分散，促进酶解过程。

注：

- 1) 消化时间取决于样本的类型和匀浆效果。一般组织样本需 0.5 ~ 3 h，鼠尾、骨骼需 6 ~ 8 h 或过夜消化。
- 2) 如孵育和涡旋振荡后仍然有胶状物质，延长 56°C 孵育时间或再加入适量 20 μ l **Proteinase K** 消化。
- 3) 如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，涡旋 15 s，室温放置 5 ~ 10 min。

3. 加入 200 μ l **YG Buffer**，立即涡旋振荡充分混匀，70°C 水浴 10 min。瞬时离心后加入 200 μ l 无水乙醇 (自备)，立即涡旋振荡充分混匀。

注：

- 1) 加入 **YG Buffer** 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。
- 2) 组织 (如脾，肺) 在加入 **YG Buffer** 和无水乙醇后可能形成溶胶状物，此时应进行剧烈振荡或涡旋处理。

D. 革兰氏阴性菌样本处理

1. 取细菌培养物 1 ~ 5 ml (10^6 ~ 10^8 个细胞，最多不超过 2×10^9 个细胞) 置于离心管 (自备) 中，12,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清。
2. 向沉淀中加入 180 μ l **YGT Buffer**，振荡使菌体重悬。
3. 加入 20 μ l **Proteinase K**，涡旋混匀，56°C 孵育，直至溶液变清亮，过程中每隔一段时间颠倒或振荡离心管使样本分散。(注：如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，涡旋 15 s，室温放置 5 ~ 10 min)
4. 向管中加入 200 μ l **YG Buffer**，涡旋振荡混匀。
5. 加入 200 μ l 无水乙醇 (自备)，涡旋振荡充分混匀，瞬时离心收集溶液。(注：如产生白色沉淀，不影响后续实验)

E. 革兰氏阳性菌样本处理

1. 取细菌培养物 1 ~ 5 ml (10^6 ~ 10^8 个细胞，最多不超过 2×10^9 个细胞) 置于离心管 (自备) 中，12,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清。
2. 向沉淀中加入 180 μ l **溶菌酶缓冲液 (自制)**，振荡使菌体重悬，37°C 孵育 30 min。(注：大部分细菌水浴 30 min 后已充分破壁，但是某些细胞壁较厚的细菌，如金黄色葡萄球菌需要处理 1 ~ 2 h 才能完全破壁。请根据不同类别的细菌，适当调整水浴时间)
3. 先向管中加入 20 μ l **Proteinase K**，涡旋混匀。再加入 200 μ l **YG Buffer**，涡旋振荡混匀。56°C 孵育 30 min。(注：如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，涡旋 15 s，室温放置 5 ~ 10 min)



4. 加入 200 μ l 无水乙醇 (自备), 涡旋振荡混匀, 瞬时离心收集溶液。

F. 酵母

- 13,000 rpm 离心 1 min 收集酵母细胞 ($\leq 5 \times 10^7$), 吸弃上清。
- 向沉淀中加入 500 μ l **山梨醇 Buffer (自制)** (1 M Sorbitol, 10 mM EDTA, 14 mM β -mercaptoethanol) 和 15 U Lyticase (YALI#YX27008), 37°C 水浴孵育 1 h 后, 8,000 rpm 离心 10 min, 吸弃上清。
- 向沉淀中加入 200 μ l **YGT Buffer**, 振荡至样品彻底悬浮。
- 依次加入 20 μ l **Proteinase K**, 200 μ l **YG Buffer** 振荡混匀, 56°C 水浴 45 min。 (注: 如需去除 RNA, 可在上述步骤完成后, 加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001), 涡旋 15 s, 室温放置 5 ~ 10 min)
- 加入 200 μ l 无水乙醇 (自备), 涡旋振荡混匀, 瞬时离心收集溶液。

● 柱式纯化

- 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。
- 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer GA** (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。
- 向吸附柱中加入 500 μ 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。重复该步骤一次。
- 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)
- 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50 ~ 200 μ l **YGE Buffer**, 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 ddH₂O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用 ddH₂O 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 5。
- 3) 如要增加产量, 可用新的 50 ~ 200 μ l YGE Buffer/ddH₂O 进行洗脱。
- 4) YGE Buffer/ddH₂O 可在 56°C 提前预热, 滴加至膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断