

# YALEPIC<sup>®</sup> 微量样本 DNA 提取试剂盒 (不含 RNase A)

## YALEPIC<sup>®</sup> Micro Sample DNA Isolation Kit (No RNase A)

**产品货号:** YC22012

### 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> Micro Sample DNA Isolation Kit (No RNase A)** 适用于新鲜或冷冻的动物组织、毛发、指甲、微量血液、微量唾液、尿液、骨骼、牙齿等多种样本。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。提取的 DNA 可用于酶切、Real-Time PCR、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	YC22012 (50 T)
①	YGT Buffer	15 ml
②	YG Buffer	15 ml
③	Wash Buffer GA	13 ml
④	Wash Buffer GB	16 ml
⑤	YGE Buffer	15 ml
⑥	Proteinase K	1.2 ml
⑦	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T

### 适用范围

新鲜或冷冻的动物组织、毛发、指甲、微量血液、微量唾液、尿液、骨骼、牙齿等多种样本。

### 自备试剂及仪器

无水乙醇; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管; 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. 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。
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。

## 实验流程

### ● 样本处理

#### A. 微量血液或唾液样本

1. 取约 1 ~ 10  $\mu\text{l}$  的血液或唾液置于离心管 (自备) 中，加入 180  $\mu\text{l}$  **YGT Buffer**、200  $\mu\text{l}$  **YG Buffer** 和 20  $\mu\text{l}$  **Proteinase K**，涡旋震荡 10 s。
2. 置于恒温孵育器 80°C、1200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu\text{l}$  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)

#### B. 毛发或指甲样本

- 1a. 取约 1 ~ 5 cm 发根部 (带毛囊) 的样本，剪成 0.5 ~ 1 cm 的小段，置于离心管中，加入 180  $\mu\text{l}$  **YGT Buffer**，20  $\mu\text{l}$  **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育至少 1 h。
- 1b. 取 10 ~ 100 mg 左右接近皮肤部位的指甲样本，剪碎 (或用液氮研磨) 后置于离心管中，加入 180  $\mu\text{l}$  **YGT Buffer**，20  $\mu\text{l}$  **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育至少 1 h。
2. 加入 200  $\mu\text{l}$  **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu\text{l}$  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)

#### C. 拭子样本

- 1a. 拭子样本湿拭子：取 10 ~ 100  $\mu\text{l}$  存放拭子的保存液，置于离心管中，加入 180  $\mu\text{l}$  **YGT Buffer**，20  $\mu\text{l}$  **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 1 h。
- 1b. 干拭子：将拭子用剪刀从杆上剪下，置于离心管中，加入 360  $\mu\text{l}$  **YGT Buffer**，20  $\mu\text{l}$  **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 1 h。
2. 加入 200  $\mu\text{l}$  **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu\text{l}$  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)

#### D. 血片或血斑样本

- 1a. 取直径约 3 mm 的血片样本 1 ~ 2 片, 置于离心管中, 加入 180  $\mu$ l YGT Buffer, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1200 rpm 孵育 45 min。
- 1b. 剪取滴落在衣物或棉布上直径约 6 mm 的血斑样本, 置于离心管中, 加入 180  $\mu$ l YGT Buffer, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1200 rpm 孵育 1 h。
2. 加入 200  $\mu$ l **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器 70°C、1200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu$ 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. 骨骼或牙齿样本

1. 将骨骼或牙齿用液氮或金属研磨器研磨后取 0.01 ~ 0.1 g 左右置于离心管中, 加入 260  $\mu$ l **YGT Buffer**, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育过夜。
2. 加入 200  $\mu$ l **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu$ 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)

#### F. 组织样本

1. 取 1 ~ 10 mg 组织用液氮研磨后, 置于离心管中, 加入 180  $\mu$ l **YGT Buffer**, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 1 h 或 56°C 水浴过夜。
2. 加入 200  $\mu$ l **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu$ 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)

#### G. 烟头或果壳样本

- 1a. 取 1 ~ 3 张 1 cm<sup>2</sup> 烟头外层纸剪碎, 置于离心管中, 加入 180  $\mu$ l **YGT Buffer**, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 1 h 或 56°C 水浴过夜。
- 1b. 取 1 ~ 3 片果壳碎片, 置于离心管中, 加入 180  $\mu$ l **YGT Buffer**, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 1 h 或 56°C 水浴过夜。
2. 加入 200  $\mu$ l **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu$ 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)

## H. 尿液样本

1. 尿液样本将 1 ~ 20 ml 尿液 4,000 rpm 离心 10 min 弃去上清, 留取 10 ~ 200  $\mu$ l 沉淀置于 1.5 ml 离心管 (自备) 中, 加入 180  $\mu$ l **YGT Buffer**, 20  $\mu$ l **Proteinase K** 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器 56°C、1,200 rpm 孵育 45 min。
2. 加入 200  $\mu$ l **YG Buffer** 后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器 70°C、1,200 rpm 孵育 10 min。
3. 加入 200  $\mu$ 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)

### ● 柱式纯化

1. 将样本处理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  $\mu$ 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。
3. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ 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。
4. 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)
5. 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  $\mu$ 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 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 5。
- 3) 如要增加产量, 可用新的 50 ~ 200  $\mu$ l YGE Buffer/ddH<sub>2</sub>O 进行洗脱。
- 4) 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。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断