



YALEPIC® 动物细胞/组织 DNA/RNA 提取试剂盒

YALEPIC® Animal Cell & Tissue DNA/RNA Isolation Kit

产品货号: YB25007

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® Animal Cell & Tissue DNA/RNA Isolation Kit 基于异硫氰酸胍裂解与硅基质膜纯化相结合的技术, 适用于从动物组织、细胞中同时分离纯化基因组 DNA 和总 RNA。提取过程中无需使用氯仿, 本产品采用独特硅基质材料, 可高效吸附基因组 DNA 和总 RNA, 有效去除杂质蛋白等污染物。提取的 DNA 和 RNA 可用于酶切、PCR、Southern 杂交、RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、高通量测序、Northern Blot、Dot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种分子生物学实验。

产品组分

序号	产品组分	YB25007 (50 T)
①	YL Buffer	36 ml
②	Wash Buffer RA	42 ml
③	Wash Buffer RB	12 ml
④	Wash Buffer GA	13 ml
⑤	Wash Buffer GB	16 ml
⑥	RNase-free ddH ₂ O	15 ml
⑦	YGE Buffer	11 ml
⑧	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T
⑨	Pure Columns RT with Collection Tubes	50 T

适用范围

动物组织: 10 ~ 30 mg

培养细胞: $\leq 1 \times 10^7$ 个

自备试剂及仪器

无水乙醇 (新开封或提取 RNA 专用) ; 70% 乙醇 (RNase-free ddH₂O 配制) ; β -巯基乙醇;
Nuclease-free 离心管; Nuclease-free 移液器吸头; 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, 与常规 RNA 实验操作环境一致。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品, 配制溶液应使用 RNase-free ddH₂O, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 避免交叉污染的风险。
3. 避免样本反复冻融, 否则影响 RNA 提取得率和质量。
4. 首次使用 **Wash Buffer RB**, **Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 前应按照试剂瓶标签加入无水乙醇。
5. 使用前请检查 **YL 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。 **YL Buffer** 在使用前请加入 β -巯基乙醇, 至终浓度为 1%。如 1 ml **YL Buffer** 加 10 μ l β -巯基乙醇。加入 β -巯基乙醇的 **YL Buffer** 室温可保存 1 个月。

实验流程

1. 样本处理:
 - a. 贴壁细胞: 将细胞处理成细胞悬液, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃上清, 得到细胞沉淀。向沉淀中加入 600 μ l **YL Buffer** (确认加入 β -巯基乙醇), 吹打混匀至细胞充分裂解。 (注: 尽量弃尽上清, 以免影响提取效果)
 - b. 细胞悬液: 12,000 rpm 离心 1 min, 弃上清, 得到细胞沉淀。向沉淀中加入 600 μ l **YL Buffer** (确认加入 β -巯基乙醇), 吹打混匀至细胞充分裂解。 (注: 尽量弃尽上清, 以免影响提取效果)
 - c. 动物组织
 - 1) 匀浆处理: 取新鲜组织 30 mg 加入 600 μ l **YL Buffer** (使用前检查是否加入 β -巯基乙醇), 用电动匀浆器进行冰上进行匀浆, 直至无明显组织块, 防止局部温度瞬时升高导致 RNA 降解。
 - 2) 液氮研磨: 将组织在液氮中磨碎成细腻的粉末。每 30 mg 组织加 600 μ l **YL Buffer**, 涡旋振荡至无明显粉末团。
2. 将上一步所得溶液, 室温静置 3 min, 然后 12,000 rpm 离心 3 ~ 5 min。将全部上清加入到已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YM with Collection Tubes**) 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 可分两次转入, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集滤液于一个新的离心管 (自备)。并将吸附柱 **Pure Columns YM** 放在一个新的 2mL 收集管 (自备) 中, 室温或 4°C 放置, 待提 DNA。

● RNA 提取

3. 向过滤液中加入 1 倍体积的 70% 无水乙醇 (自备), 混匀。 (注: 沉淀不影响后续实验)
4. 将步骤 7 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns RT with Collection Tubes**) 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 可分两次转入, 12,000 rpm 离心 20 s, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入 700 μ l **Wash Buffer RA**, 12,000 rpm 离心 15 s, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer RB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 15 s, 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。
7. 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)
8. 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) (自备), 向吸附柱的中间部位悬空加入 30 ~ 50 μ l **RNase-free ddH₂O**, 室温放置 2 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 RNA 溶液, 提取的 Total RNA 可直接用于下游实验或于 - 85 ~ - 65°C 保存, 防止降解。

注:

- 1) **RNase-free ddH₂O** 体积不应小于 30 μ l, 体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高 RNA 产量, 可用新的 30 ~ 50 μ l **RNase-free ddH₂O** 加入到吸附柱中, 重复步骤 8。
- 3) 如果要提高 RNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 8。

● 基因组 DNA 提取

9. 向步骤 6 结束后获得的已装入收集管的吸附柱 **Pure Columns YM** 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 30 s, 弃去收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
10. 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 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)
11. 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)



12. 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) (自备) 中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50 ~ 100 μ l **YGE Buffer** 或 ddH₂O, 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 12。
- 3) YGE Buffer/ddH₂O 可在 56°C 提前预热加膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min。