Version 26.02

YALEPIC® 血液 DNA/RNA 提取试剂盒
YALEPIC® Blood DNA/RNA Isolation Kit

产品货号： YB25006

产品保存及运输条件:

常温运输；10 ~ 30℃ 室温保存。

产品概述

YALEPIC® Blood DNA/RNA Isolation Kit 可从新鲜全血（或用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的多物种血液样品）中提取多样本基因组 DNA 和总 RNA，全程仅需 1 h。本产品采用独特硅基质材料，可高效吸附 RNA，有效去除血红素、肝素等酶抑制剂和杂质蛋白等污染物。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	YB25006（50 T）
①	RCLP Buffer（10×）	60 ml
②	YL Buffer	36 ml
③	Wash Buffer RA	42 ml
④	Wash Buffer RB	12 ml
⑤	Wash Buffer GA	13 ml
⑥	Wash Buffer GB	16 ml
⑦	RNase-free ddH_2O	15 ml
⑧	YGE Buffer	11 ml
⑨	Pure Columns YM2 with Collection Tubes	50 T
⑩	Pure Columns RT with Collection Tubes	50 T

适用范围

≤ 1.5 ml 新鲜全血、用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品。

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 ddH_2O 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。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，配制溶液应使用 RNase-free ddH_2O，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
3. 使用新鲜样本，尽量避免反复冻融。否则影响 RNA 提取得率和质量。
4. 本试剂盒不能用于加入抗凝剂的冷冻血液样本 RNA 的提取。
5. **RCLP Buffer（10×）**需在使用前将溶液用 RNase-free ddH_2O（自备）进行 10 倍稀释，请将稀释后 **1×RCLP 工作液**置于 2 ~ 8℃ 保存。
6. 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。
7. 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℃ 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 μl 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. 向 0.5 ~ 1.5 ml 新鲜的抗凝全血样本中，加入 5 倍体积的 **1× RCLP 工作液**，轻柔涡旋或颠倒混匀。冰上孵育 15 min，孵育过程中混匀两次。（注：孵育过程中悬液会变成透明，证明红细胞被裂解，孵育时间可延长至 20 min）
2. 4℃ 2,100 rpm 离心 10 min，小心吸弃上清。
3. 向沉淀中加入 2 倍样本体积的 **1×RCLP 工作液**。轻柔涡旋，充分重悬沉淀。
4. 4℃ 2,100 rpm 离心 10 min，小心彻底吸弃上清。
5. 向沉淀中加入 600 μl **YL Buffer**（确认加入β-巯基乙醇），混匀。（注：若样本量 < 0.5 ml，只需加入 350 μl YL Buffer）
6. 将步骤 5 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（**Pure Columns YM2 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 2 min，收集滤液于一个新的离心管（自备）。并将吸附柱 **Pure Columns YM2** 放在一个新的 2mL 收集管（自备）中，室温或 4℃放置，待提 DNA。

- **RNA 提取**

7. 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）
8. 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。
9. 向吸附柱中加入 700 µl **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。
10. 向吸附柱中加入 500 µl **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。
11. 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），向吸附柱的中间部位悬空加入 30 ~ 50 µl **RNase-free ddH_2O**，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℃ 保存，防止降解。

    注：

    1) RNase-free ddH_2O 体积不应小于 30 µl，体积过小影响回收率。
    2) 如果要提高 RNA 产量，可用新的 30 ~ 50 µl RNase-free ddH_2O 加入到吸附柱中，重复步骤 12。
    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 12。

- **基因组 DNA 提取**

13. 向步骤 6 结束后获得的已装入收集管的吸附柱 **Pure Columns YM2** 中加入 500 µl **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。
14. 向吸附柱中加入 500 µl **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）
15. 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）

16. 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 µl **YGE Buffer** 或 ddH_2O，室温放置 2 ~ 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集溶液，- 20℃ 长期保存。

注：

1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用 ddH_2O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用 ddH_2O 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 16。
3) YGE Buffer/ddH_2O 可在 56℃ 提前预热加膜中后，室温静置 2 ~ 5 min。