

Onestep-Lysis[®] Blood DNA Isolation Kit
一步法血液基因组 DNA 抽提试剂盒

目录号：DNE05

试剂盒组成

试剂盒组成	保存	DNE05-01 (50 次)	DNE05-02 (100 次)	DNE05-03 (200 次)
Buffer RCL	室温	100 ml	100×2	100×4
Buffer XTS	室温	30 ml	60 ml	120 ml
Buffer WB1	室温	25 ml	50 ml	100 ml
Buffer WB2	室温	13 ml	25 ml	25 ml×2
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇		
Buffer TE	室温	10 ml	20 ml	30 ml
Onestep-Lysis [®] Columns AC	室温	50 个	100 个	200 个
Collection Tubes	室温	50 个	100 个	200 个
Manual		1 份		

保存方法

室温保存 12 个月内效果稳定。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本产品采用 Buffer XTS 裂解血液样品,可迅速溶解核膜,解离核蛋白,释放基因组 DNA,无需蛋白酶 K 辅助消化。裂解上清液经异丙醇调节后 DNA 被吸附在硅胶膜上,经两步洗涤液的清洗完全去除硅胶膜吸附的少量杂质,在洗脱液的作用下硅胶膜释放吸附的 DNA,即获得高质量的基因组 DNA。抽提得到的 DNA 可以直接用于 PCR、酶切、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

标准抽提步骤

- 所有离心步骤均可在室温完成,使用普通台式离心机即可。
- 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇,充分混匀,加入后请及时在方框内打钩标记,以免重复加入!

1. 样品处理

a) 无核红细胞抗凝血:

取 0.2-1 ml 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液,加入 2 倍体积的 Buffer RCL,颠倒混匀 6-8 次裂解红细胞,12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min,吸弃红色上清,留下管底白细胞核沉淀(若沉淀为红色也不影响后续操作),加入 600 μl Buffer XTS,用移液器吸打混匀至沉淀溶解消失(不要有血丝),涡旋震荡 20 s,溶液应变黏稠,室温放置 10 min 充分裂解,期间混匀 2-3 次可增加产量,接步骤 2。

- 若血液体积 < 200 μl, 可以不去除红细胞, 直接加入 Buffer XTS 补足至总体积 600 μl, 充分吸打或涡旋震荡混匀, 室温放置 10 min 充分裂解, 进行步骤 2。

b) 有核红细胞抗凝血(禽类、鸟类、两栖类等):

向 1.5 ml 离心管中加入 5-20 μl 抗凝血,加入 600 μl Buffer XTS,充分吸打至彻底混匀,涡旋震荡 20 s,溶液应变黏稠,室温放置 10 min 充分裂解,期间混匀 2-3 次可增加产量,接步骤 2。

- (可选步骤, 一般不需要) RNA 含量高的血液样品, 若下游实验需去除痕量 RNA 残留, 可在裂解完成后加入 10 μl RNase A(10 mg/ml) 溶液, 充分颠倒混匀, 室温放置 5 min 消化 RNA。

2. 加入 0.5 倍体积的异丙醇,充分颠倒混匀,此时可能会出现絮状沉淀,不影响后续操作。

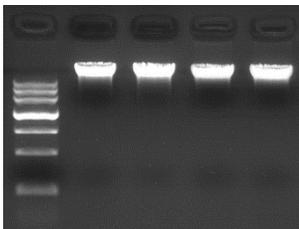
3. 将上一步所得溶液(包括可能出现的絮状沉淀)全部加入到 Onestep-Lysis[®] Columns AC 中(吸附柱 AC 放入收集管内),一次不能加完可分两次,12000 rpm 离心 1 min,倒掉废液,将吸附柱重新放回收集管中。

- 向吸附柱 AC 中加入 500 μl Buffer WB1, 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管。
- 向吸附柱 AC 中加入 600 μl Buffer WB2, 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管。
- 重复步骤 5。
- 将吸附柱 AC 放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去残留的 WB2, 弃掉收集管和废液。
 - 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会降低洗脱效率, 影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。
- 将吸附柱 AC 放入至一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μl Buffer TE 或无菌水, 室温放置 3-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 DNA。
 - Buffer TE 在 65 $^{\circ}\text{C}$ 中预热可以增加产量。有核红细胞的 DNA 量通常比较大, 加入 TE 后请留意 TE 是否全部被吸附膜吸收, 必要时可将离心管和吸附柱放置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴短暂加热以使 TE 全部被吸收。
 - 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以使用小于 100 μl TE 洗脱, 也可以将步骤 8 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上, 再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μg , 推荐用 50 μl Buffer TE 进行洗脱。

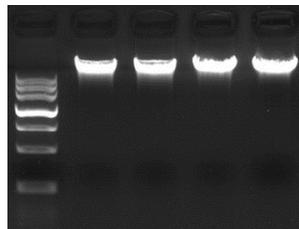
DNA 质量鉴定

用琼脂糖凝胶电泳观察 DNA 条带亮度、完整性、有无降解/蛋白污染等。有时 DNA 电泳会显示弥散条带, 可能原因是 DNA 浓度过高, 造成加样孔超载, 导致 DNA 条带拖尾或弥散, 并非 DNA 降解。

使用实例



-20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存一年人血液



-20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存一年鸡血液
