产品货号	G01E32S	G01E32M	G01E32L	G01E32X	贮存条件
产品规格	20T	50T	100T	200T	RT
Buffer A	6mL	15mL	30mL	30mL×2	RT
Buffer B	6mL	15mL	30mL	30mL×2	RT
Buffer C	40mL	100mL	200mL	200mL×2	RT
Buffer D	12.5mL	25mL	50mL	50mL×2	RT
Buffer E	6mL	15mL	30mL	30mL×2	RT
Buffer F	4mL	10mL	20mL	20mL×2	RT
蛋白酶	0.5mL	1 mL	1mL×2	1mL×4	2～8℃
DNA结合柱	20管	50管	100管	200 管	RT

【产品介绍】

本试剂盒采用独特的硅胶膜柱分离法，可以高效特异性结合 DNA，并获得高纯度基因组 DNA。适用于新鲜/冻存的抗凝全血基因组 DNA 的提取纯化，纯化获得的基因组 DNA 片段大小约为 23kb。

本试剂盒全程可在室温条件下操作，只需使用普通离心机，无 RNA 酶污染，全程 40min 内完成。

采用本试剂盒提取到的基因组 DNA 片段大，纯度高，可用于多种下游分子实验，例如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验等。

【需要未提供】

- 抗凝全血样本(无核抗凝血单次处理量应≤1mL，有核抗凝血单次处理量应≤50μL)
- 无水乙醇
- 普通离心机，水浴锅/金属浴
- 加样器，2mL 离心管/容器等

【使用前准备】

1. 所有实验步骤均在常温(15～25℃)进行(包括离心)，切勿使用冰浴和低温(4℃)离心。
2. 使用前，请在 Buffer E 中加入无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
   Buffer E 中无水乙醇的添加量见下表：

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E32S	20T	24mL
G01E32M	50T	60mL
G01E32L	100T	120mL
G01E32X	200T	120mL/瓶

【使用方法】

1. 样本处理

A. 无核红细胞抗凝血（哺乳动物）：

当样品体积小于 200μL 时，直接加入 Buffer A 补齐到 300μL，直接进行步骤 2。

当体积为 200～1000μL 时(若血液体积为 500～1000μL 时，可将血液样品平均分成两管)，加入 2 倍体积的 Buffer C，上下颠倒混匀，12,000rpm(～13,400×g) 离心 1min，弃上清，再加入 300μL 的 Buffer A，震荡至彻底混匀，进行步骤 2。

注：肝素抗凝血，建议使用 2 倍体积的 Buffer C 处理后(方法同上)，进行步骤 2。

B. 有核红细胞抗凝血（禽类）：

往 1.5mL 离心管中加入 5～20μL 抗凝血，再加入 300μL Buffer A，进行步骤 2。

2. 加入 20μL 蛋白酶充分混匀后，置于 65℃金属浴或水浴 10min。
3. 向混合液中加入 300μL Buffer B，涡旋混匀至分层消失，置于 65℃放置 10min，期间涡旋混匀数次，溶液应变清亮。

注：在温育过程中涡旋混匀数次，以保证细胞裂解充分。若溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可适当延长时间。当血液体积≤200μL 且未采用 Buffer C 处理，或是样本储存条件不佳时，水浴或金属浴处理后颜色可能为深褐色，注意溶液中应无团块等沉淀。

4. 加入 120μL 无水乙醇，涡旋震荡混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀移至 DNA 结合柱中，在 12,000rpm(～13,400×g) 离心 30sec～1min，弃掉收集管中的废液。
6. 往结合柱中加入 500μL 的 Buffer D，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 30sec～1min，弃掉收集管中的废液。
7. 往结合柱中加入 700μL 的 Buffer E，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 30sec～1min，弃掉收集管中的废液。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 将离心柱放回收集管中，在 12,000rpm(13,400×g)离心 1min。
10. 将离心柱转移至新 2 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 100μL 已于 65℃预热的 Buffer F (严禁将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 5min，在 12,000rpm(～13,400×g)离心 1min。再次向胶膜中央悬空滴加 100μL 已预热的 Buffer F，在 12,000rpm(～13,400×g) 离心 1min。将两次收集的洗脱液汇集。

注：如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，在 12,000rpm (～13,400×g) 离心 1min。

【DNA 浓度/纯度测定】

- DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- DNA 的 OD260 值为 1 约等于 50μg/mL 双链 DNA。
- DNA 的 OD260/280≈1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer F，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

【注意事项】

- 除蛋白酶组分之外，本试剂盒在室温条件下贮存，有效期可达一年。在 2～8℃条件下可贮存更长时间。但在低温条件下贮存时，试剂容易产生沉淀。使用前需将试剂在室温条件下放置一段时间，必要时需在 37℃水浴中预热 10min，使沉淀溶解后再使用。
- 蛋白酶具有独特配方，常温条件下可贮存 3 个月，在 4℃条件下贮存可达一年以上，切记不能置于-20℃贮存。
- 建议使用 EDTA 作为抗凝剂。
- Buffer B、Buffer D、蛋白酶具有刺激性，操作时请进行相关防护措施（佩戴口罩/手套等）。
- Buffer E 具有易燃性，应遵循相应规范流程。
- 本试剂盒中结合柱 DNA 的最大承载量为 80μg，离心柱液体最大承载量为 800μL。
- 洗脱体积：洗脱液体积在 100～200μL 之间最宜，否则会影响 DNA 回收率。
- DNA 产率和质量与血液新鲜程度、保存条件和洗脱体积有关，建议使用血液量在 50～1000μL 为宜，可获得 2～14μg 的高纯度 DNA。
- 样品应避免反复冻融，否则会导致 DNA 提取量下降。
- 切勿在任何组分中添加 RNA 酶。
- 本产品仅用于科学研究用途。

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E30	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E31	动物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E33	鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G06Q02	琼脂糖	100g
G06Q00	GPL Safe Green 安全核酸染料	500 μL
G06Q01	GPL Safe Red 安全核酸染料	500 μL
G02C01	2×PCR Mix (+Dye)	1mL/5mL/50mL

Version：20190118（第一版）