

**描述:** 该试剂盒针对有核禽类、鸟类、两栖类、鱼类等有核红细胞的抗凝全血特性设计（包括：鸡、鸭、鹅、鸽子、鱼等），采用独特的裂解液，可快速可靠的抗凝全血样本中纯化出高纯度的 DNA，最大限度的去除蛋白、色素、脂类等杂质污染。应用本试剂盒获取的 DNA 纯度高，无抑制剂，A260/A280 为 1.6-1.9，产量约 10-20 $\mu$ g。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern 杂交等多种分子生物学实验。

## 组分

名称	数量
gDNA LB1	6 ml
gDNA BB2	35 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
蛋白酶 K (20 mg/ml)	1ml
DNA Elution Buffer	10 ml
吸附柱芯(NP30)	50 套
2 ml 吸附柱外套管	50 套
1.5 ml 收集管	50 套

## 注意事项与准备工作:

- 1.1 Washing Buffer 中含有 70%乙醇，使用时远离火源。
- 1.2 gDNA LB1，储存时可能会有白色结晶沉淀，放置于 56 $^{\circ}$ C 水浴锅溶解后，不影响使用效果。
- 1.3 蛋白酶 K (20 mg/ml) 长期保存请储存于 -20 $^{\circ}$ C (2 年)，短期室温保存 (1 个月)，其它组分储存于室温。
- 1.4 整套吸附柱的准备: 提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中，待用。
- 1.5 gDNA LB1 与 gDNA BB2 溶液有强烈的腐蚀性，使用时务必做好防护，防止灼伤皮肤和眼睛。如有发生，立即用大量的清水冲洗，并就医。
- 1.6 该试剂盒的保质期为 2 年。

## 操作方法

- 2.1 在 1.5 ml EP 管中加入 50  $\mu$ l 无菌水，并加入 20  $\mu$ l 的有核抗凝全血，旋涡混合仪上剧烈混匀 10s。
- 2.2 加入 100  $\mu$ l gDNA LB1 和 20  $\mu$ l 蛋白酶 K 旋涡混合均匀 10s，56 $^{\circ}$ C 水浴锅中消化 10~30min（长时间消化可提高 DNA 的产量）。
- 2.3 消化完毕后，向溶液中加入 600  $\mu$ l gDNA BB2，旋涡震荡混合均匀 15s，肉眼观察有无未溶解的血凝块，如果没有血凝块，则直接倒入到整套吸附柱芯中（1.4 步骤中准备）。  
**注意: 如果有未溶解的血凝块，则短离心去除血凝块后，再倒入到吸附柱中，进行后续离心操作。**
- 2.4 将吸附柱放入离心机中，13000rpm 离心 10s，倒掉下层外套管中的过柱液，此时 DNA 已经吸附在柱芯上。
- 2.5 向吸附柱芯中加入 500  $\mu$ l Washing Buffer，盖上管盖，并上下混合 2~3 次，进行柱芯洗涤。13000rpm 离心 10s，倒掉下层外套管中的废液。并重复此洗涤步骤一次，倒掉下层外套管中的废液。
- 2.6 将吸附柱重新放回离心机，13000rpm 空离心 2min，将残留的乙醇彻底甩干。
- 2.7 将吸附柱芯从 2 ml 吸附柱外套管中取出，并放入到新的 1.5ml 收集管中，向吸附柱芯中加入 80~100  $\mu$ l DNA Elution Buffer，13,000rpm 离心 1min，洗脱液即为基因组 DNA，冷冻保存。