

# **QKGEN<sup>®</sup> 微量样本 DNA 提取试剂盒**

**使用说明书 (V1.0)**

**本产品仅供科研用途**

## 产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,样品裂解后, DNA 在高盐条件下与硅胶膜结合,在低盐、高 pH 值时 DNA 从硅胶膜上洗脱下来。

本试剂盒用于从小剂量的血液、干血点、血清、血浆、微量组织、漱口水、毛发、微切割组织等微量样品中提取基因组 DNA,所得基因组 DNA 可直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

## 产品组分:

组分	QWD0050
缓冲液 GA (Buffer GA)	15 mL
缓冲液 GB (Buffer GB)	15 mL
缓冲液 GD (Buffer GD)	13 mL
漂洗液 PW (Buffer PW)	15 mL
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	15 mL
Proteinase K	1 mL
Carrier RNA	310 µg
RNase-Free 吸附柱 CR2 (RNase-Free Spin CoLumns CR2)	50 个
收集管 (2 mL) (CoLLection Tubes 2 mL)	50 个

## 保存方法:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下,可保存 12 个月,更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下,若溶液产生沉淀,使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间,必要时可在 37°C 水浴中预热 10 min,以溶解沉淀。Carrier RNA 配置成储液后置于 -20°C。

## 注意事项:

1. 自备试剂: 无水乙醇; 1 M DTT (提取毛囊毛发)
2. 样品使用量的确定:

QKGEN®微量样本 DNA 提取试剂盒技术指标

吸附柱最大容量	700 $\mu\text{L}$
最小洗脱体积	20 $\mu\text{L}$
抗凝全血 (哺乳动物)	最大量 100 $\mu\text{L}$
样品使用最大量 (动物组织)	最大量 10 mg

3. 若缓冲液 GA 或 GB 中有沉淀, 可在 37°C 水浴中重新溶解。
4. 所有的样品使用前请平衡到室温(15-25°C)。
5. 第一次使用试剂盒时, 请按照试剂瓶上的提示在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中添加无水乙醇。
6. 为了确保从微量样本中得到更多的 DNA, 试剂盒配备了 Carrier RNA。由于 Carrier RNA 本身是小核酸, 所以得到的基因组测定 OD260 值会比真实值偏大, 建议将得到的基因组直接用 PCR 进行检测。

## Carrier RNA 储存液的配制

在第一次使用 Carrier RNA 时, 请将 Carrier RNA (310  $\mu\text{g}$ ) 溶解在 310  $\mu\text{L}$  RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 中, 将溶液分装储存于 -20°C, 此时该溶液的浓度为 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; 该储存液应避免反复冻融, 冻融次数不能超过 3 次。

---

## 一、从少量血中提取基因组 DNA

### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 1-100  $\mu\text{L}$  血液到 1.5 mL 的离心管中。
2. 不足 100  $\mu\text{L}$  的血液样本加缓冲液 GA 补足到 100  $\mu\text{L}$ 。
3. 加入 10  $\mu\text{L}$  的 Proteinase K 溶液。

**注意：**如果需要去除 RNA，可加入 5  $\mu\text{L}$  RNase A (100mg/mL)溶液，振荡 15 sec，室温放置 5 min。

4. 加入 100  $\mu\text{L}$  的缓冲液 GB（如果最初所取血液样品体积为 1-10  $\mu\text{L}$ ，请加入 1  $\mu\text{L}$  Carrier RNA 储存液，浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，轻轻颠倒混匀，简短离心以去除管盖内壁的液滴。56 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 10 min，并不时轻摇样品。

**注意：**加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀，一般 56 $^{\circ}\text{C}$ 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

5. 加入 50  $\mu\text{L}$  乙醇（96-100%），如果室温超过 25 $^{\circ}\text{C}$ ，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置 3 min。简短离心以去除管盖内壁的液滴。
6. 将上一步所得溶液都加到一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
7. 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu\text{L}$  缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
8. 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu\text{L}$  漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
9. 重复操作步骤 8。
10. 12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

---

**注意:** 这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR等)实验。

11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液 TB, 室温放置 2-5 min, 12,000 rpm( $\sim 13,400\times g$ )离心 2 min, 将溶液收集到离心管中。

**注意:** 洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu\text{L}$ , 体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率, 可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ )离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; 且 DNA 产物应保存在  $-20^{\circ}\text{C}$ , 以防 DNA 降解。

## 二、从干血点中提取基因组 DNA

### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取三片  $3\times 3\text{ mm}$  的样品到 1.5 mL 的离心管中。
2. 加入 180  $\mu\text{L}$  的缓冲液 GA。
3. 加入 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 溶液, 轻轻颠倒混匀。56 $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h, 期间每 10 min 涡旋 10 sec。
4. 加入 200  $\mu\text{L}$  的缓冲液 GB 和 1  $\mu\text{L}$  Carrier RNA 储存液, 浓度为 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , 轻轻颠倒混匀, 70 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min, 期间每 3 min 涡旋 10 sec。孵育结束后简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意:** 加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀, 一般 70 $^{\circ}\text{C}$  放置时会消失, 不会影响后续实验。如溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

5. 加入 200  $\mu\text{L}$  的乙醇 (96-100%)。如果室温超过 25 $^{\circ}\text{C}$ , 请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品, 室温放置 5 min, 简短离心以去除管盖内壁的液滴。

- 
6. 将上一步所得溶液都加到一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  7. 向吸附柱 CR2 中加入 500 μL 缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  8. 向吸附柱 CR2 中加入 600 μL 漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  9. 重复操作步骤 8。
  10. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50 μL 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于 20 μL，体积小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。

### 三、从血清/血浆中提取循环核酸/游离核酸

#### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 100 μL -200 μL 血清/血浆到 2mL 的离心管中，如不足 100 μL，加缓冲液 GA 到 100 μL 终体积。

- 
- 加入 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 溶液，涡旋混匀。
  - 加入 200  $\mu\text{L}$  的缓冲液 GB（如血清/血浆体积 $<50 \mu\text{L}$ ，可加入 1  $\mu\text{L}$  Carrier RNA 储存液，浓度为 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ），轻轻颠倒混匀，56 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min，并不时摇动样品。简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：**加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀，一般 56 $^{\circ}\text{C}$  放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

- 加入 200  $\mu\text{L}$  的乙醇（96-100%）。如果室温超过 25 $^{\circ}\text{C}$ ，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置 5 min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- 将上一步所得溶液添加到一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
- 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu\text{L}$  缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
- 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu\text{L}$  漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
- 重复操作步骤 7。
- 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

- 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液

---

应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。

#### 四、从漱口水中提取基因组 DNA

##### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 在 50 mL 无菌管中添加 10-20 mL 漱口水样品，800 rpm (~1,800×g) 离心 5 min，将上清小心倒掉。
2. 向沉淀中添加 200 μL 缓冲液 GA 重悬，将全部悬液转移至 1.5 mL 离心管中。
3. 加入 20 μL Proteinase K 溶液，涡旋 10 sec 混匀，56°C 放置 60 min，期间每 15 min 涡旋混匀数次。
4. 加入 200 μL 缓冲液 GB 和 1 μL Carrier RNA 储存液，浓度为 1 μg/μL，充分颠倒混匀，70°C 放置 10 min，期间每 3 min 涡旋 10 sec。此时溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：**加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀，一般 70°C 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

5. 加 200 μL 无水乙醇，充分颠倒混匀，简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：**加入无水乙醇后可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。

6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀加入一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
7. 向吸附柱 CR2 中加入 500 μL 缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
8. 向吸附柱 CR2 中加入 600 μL 漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。

---

9. 重复操作步骤 8。

10. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min, 倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意:** 这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR 等)实验。

11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu$ L 洗脱缓冲液 TB, 室温放置 2-5 min, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min, 将溶液收集到离心管中。

**注意:** 洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu$ L, 体积小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率, 可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中, 室温放置 2min, 12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; 且 DNA 产物应保存在-20°C, 以防 DNA 降解。

## 五、从毛囊中提取基因组 DNA

### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

**请提前准备 1M DTT 溶液。**

1. 材料处理: 含毛囊的毛发: 在 1.5 mL 离心管中加入 250  $\mu$ L 缓冲液 GA, 20  $\mu$ L 蛋白酶 K, 20  $\mu$ L 1 M DTT, 混匀。从毛发根部毛囊处取 1 cm 长的一段, 与上述溶液涡旋混匀 10 sec。

2. 在 56°C 孵育直到样本充分降解消化。需要时间至少 60 min, 期间每隔 20 min 涡旋 10 sec 混匀; 或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。

**注意:** 裂解时间根据样本不同有所差异, 一般毛发需要 1 h; 过夜消化也可, 且过夜消化对整个实验没有太大影响。羽茎样本不会完全消化, 对于未消化完全的羽茎样本, 可以直接离心, 取上清液进行后续实验。

- 
3. 添加 300  $\mu\text{L}$  缓冲液 GB 和 1  $\mu\text{L}$  Carrier RNA 储存液，浓度为 1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，充分混匀。
  4. 56°C 水浴 10 min，期间每 3min 涡旋混匀 10 sec。
  5. 添加 300  $\mu\text{L}$  无水乙醇，充分涡旋混匀。简短离心以去除管盖内壁的液滴。
  6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀分两次加入一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  7. 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu\text{L}$  缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  8. 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu\text{L}$  漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
  9. 重复操作步骤 8。
  10. 12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续 的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。

## 六、从微量组织中提取基因组 DNA

### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标

---

签。

1. 取不超过 10 mg 的组织到 1.5 mL 的离心管中，立即加入 180  $\mu$ L 缓冲液 GA，室温放置，使离心管温度平衡到室温。
2. 加入 20  $\mu$ L Proteinase K 溶液，涡旋混匀 10 sec。
3. 在 56°C 孵育直到样本充分降解消化，需要时间大约 30 min 到 1h，期间每 15 min 需要涡旋混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
4. 加入 200  $\mu$ L 的缓冲液 GB 和 1  $\mu$ L Carrier RNA 储存液，浓度为 1  $\mu$ g/ $\mu$ L，充分颠倒混匀，70°C 放置 10 min，期间每 3 min 涡旋混匀 10 sec，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
5. 加入 200  $\mu$ L 的乙醇（96-100%）。如果室温超过 25°C，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置 5 min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
6. 取上一步所得溶液全部转入吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
7. 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu$ L 缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
8. 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu$ L 漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
9. 重复操作步骤 8。
10. 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置 2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。  
**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。
11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu$ L 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

---

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu\text{L}$ ，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防 DNA 降解。

## 七、从微切割样品中提取基因组 DNA（包括福尔马林固定的微切割样品）

### 操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 加入 15  $\mu\text{L}$  缓冲液 GA 到 0.2 mL 离心管中，放入微切割样品。
2. 加入 10  $\mu\text{L}$  蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 10 sec。
3. 56 $^{\circ}\text{C}$  孵育 3 h 使样本充分降解消化。若福尔马林样品需要孵育 16 h，期间隔段时间需要涡旋混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
4. 加入 25  $\mu\text{L}$  缓冲液 GA，混匀。再加入 50  $\mu\text{L}$  缓冲液 GB 和 1  $\mu\text{L}$  Carrier RNA 储存液，浓度为 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，涡旋混匀 10 sec，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
5. 加入 50  $\mu\text{L}$  的乙醇（96-100%）。如果室温超过 25 $^{\circ}\text{C}$ ，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置 5min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
6. 取上一步所得溶液添加到一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
7. 向吸附柱 CR2 中加入 500  $\mu\text{L}$  缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
8. 向吸附柱 CR2 中加入 600  $\mu\text{L}$  漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱 CR2 放回收集管中。
9. 重复操作步骤 8。

---

10. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

11. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 20-50  $\mu$ L 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于 20  $\mu$ L，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。