



# FlexGen Blood DNA Kit (0.1-20 ml)

## 血液基因组非柱式提取试剂盒(0.1-20 ml)

目录号：CW0544S (50 ml)  
CW0544M (200 ml)

保存条件：Buffer FG1 2-8℃，其他组分室温（15-30℃）。

### 产品内容

Component	CW0544S 50 ml	CW0544M 200 ml
Buffer FG1	2×65 ml	2×260 ml
Buffer FG2	30 ml	120 ml
Buffer GE	15 ml	60 ml
Proteinase K	3 mg	12.5 mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25 ml	1.25 ml

## 产品简介

本试剂盒提供了一种快速、灵活的方法，适用于提取新鲜或冷冻全血（用柠檬酸盐、EDTA或肝素等抗凝剂处理过的样品）总DNA，包括基因组DNA和线粒体DNA。本品可以灵活处理0.1-20 ml的全血，采用非离心柱的方法，无需使用苯酚、氯仿等有机溶剂，有效去除蛋白、色素、脂类及其它抑制性杂质污染。整个过程在一个管中操作，减少了污染及样本混淆的风险。提取的DNA产量高、质量好，可直接用于PCR、荧光定量PCR、酶切和Southern Blot以及文库构建等实验。

## 产品特点

- 纯度高：提取的基因组DNA可直接用于下游PCR、荧光定量PCR、酶切等各种实验。
- 提取量大：可从0.1-20 ml的全血中提取DNA，无需使用苯酚、氯仿等有机溶剂。
- 兼容性强：适用于处理各种血液和细胞样本。

**自备试剂：** 异丙醇、70%乙醇。

## 实验前准备及重要注意事项

1. 向Proteinase K中加入指定用量的Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

Cat. No.	CW0544S	CW0544M
Proteinase K Storage Buffer	0.3 ml	1.25 ml

2. 所有离心操作均在室温下完成。
3. 血液样品反复冻融，会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。所得基因组DNA也应尽可能避免反复冻融，以免降解。如果提取冷冻血液的基因组DNA，建议37℃水浴，迅速解冻后再进行后续操作。
4. 血液样品的储存：
  - 1) 短期保存：已加入抗凝剂的血液样品可在2-8℃储存最多10天，对于某些实验例如Southern杂交等，需要得到完整全长的基因组DNA，请将血液样品在2-8℃储存不超过3天，此时基因组DNA的降解程度较轻。
  - 2) 长期保存：已加入抗凝剂的血液请置于-70℃保存（如果提取的是高分子量的DNA，推荐使用EDTA作为抗凝剂）。

## 操作步骤

### 一、从100–900 $\mu$ l全血中提取基因组（以300 $\mu$ l血液处理量为例）

1. 取**300  $\mu$ l全血**于2 ml离心管（自备）中，加入**300  $\mu$ l（样本等体积）Buffer FG1**，上下颠倒混匀5次，10,000 $\times$ g离心30秒，弃上清。
2. 再向离心管中加入**450  $\mu$ l（1.5倍样本体积）Buffer FG1**，涡旋震荡，使沉淀完全分散。**10,000 g**离心30秒，弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上，放置2分钟。  
**注意：在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。将离心管倒置在吸水纸上，可以减少管壁上清的回流。**
3. 按照附表配制Buffer FG2与Proteinase K的混合液（比例100:1）。  
**注意：此混合液最好现用现配，并在配好后1小时之内用完。**
4. 加入**150  $\mu$ l Buffer FG2与Proteinase K的混合液**，立即涡旋混匀至溶液无团块。  
**注意：1）如果有多个样品同时操作，加入Buffer FG2/Proteinase K混合液后立即涡旋震荡，不要等所有样品都加完后再震荡。**  
**2）通常涡旋震荡3-4次，每次5秒，可以使沉淀充分悬浮，如果涡旋震荡后发现沉淀中含胶状物质可以再加入30  $\mu$ l Buffer FG2/Proteinase K混合液，再次涡旋混匀。**
5. 65 $^{\circ}$ C孵育10分钟，其间颠倒混匀数次。  
**注意：如果样品颜色从红色变成橄榄绿说明蛋白消化完全。**
6. 加入**150  $\mu$ l异丙醇**，上下颠倒彻底混匀直至出现丝状或簇状基因组DNA。  
**注意：与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要。如果样品中白细胞含量少，可能看不到DNA，则至少上下颠倒离心管20次确保沉淀完全。**
7. **10,000 $\times$ g**离心5分钟。  
**注意：如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。**
8. 弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上吸干。  
**注意：少数时候沉淀可能贴壁不牢，注意不要吸弃沉淀。**
9. 加入**300  $\mu$ l 70%乙醇**，涡旋震荡5秒，**10,000 $\times$ g**离心5分钟，弃上清。  
**注意：如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。**
10. 把离心管倒置于干净的吸水纸上5分钟，确保沉淀在管中。  
**注意：在管底可见白色的DNA沉淀，在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5分钟）。

**注意：**乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验，但避免过度干燥DNA沉淀，因过度干燥会使DNA难于溶解。

12. 加入**200  $\mu$ l Buffer GE**，低速涡旋5秒，65℃孵育1小时溶解DNA，期间轻弹数次助溶。-20℃保存DNA。

**注意：**如果DNA没有完全溶解，可室温过夜。

## 二、从1-5 ml全血中提取基因组（以3 ml血液处理量为例）

1. 取**3 ml全血**于15 ml离心管（自备）中，加入**3 ml（样本等体积）Buffer FG1**，上下颠倒混匀5次，**2,500 $\times$ g**离心5分钟，弃上清。

2. 再向离心管中加入**4.5 ml（1.5倍样本体积）Buffer FG1**，涡旋震荡，使沉淀完全分散。**2,500 $\times$ g**离心5分钟，弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上，放置2分钟。

**注意：**在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。将离心管倒置在吸水纸上，可以减少管壁上清的回流。

3. 按照附表配制缓冲液FG2与Proteinase K的混合液（比例100:1）。

**注意：**此混合液最好现用现配，并在配好后1h之内用完。

4. 加入**1.5 ml Buffer FG2/Proteinase K混合液**，立即涡旋混匀至溶液无团块。

**注意：**1) 如果有多个样品同时操作，加入Buffer FG2/Proteinase K混合液后立即涡旋震荡，不要等所有样品都加完后再震荡。

2) 通常涡旋震荡3-4次，每次5秒可以使沉淀充分悬浮，如果涡旋震荡后发现沉淀中含胶状物质可以再加入300  $\mu$ l BufferFG2/Proteinase K混合液，再次涡旋混匀。

5. 65℃孵育10-30分钟，其间颠倒混匀数次。

**注意：**如果样品颜色从红色变成橄榄绿说明蛋白消化完全。

6. 加入**1.5 ml异丙醇**，上下颠倒彻底混匀直至看到DNA。

**注意：**与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要。如果样品中白细胞含量少，可能看不到DNA，则至少上下颠倒离心管20次确保沉淀完全。

7. **2,500 $\times$ g**离心5分钟。

**注意：**如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。

8. 弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上吸干。

**注意：在管底可见白色的DNA沉淀，在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

9. 加入**1.5 ml 70%乙醇**，涡旋震荡5秒，**2,500×g**离心5分钟，弃上清。

**注意：如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。**

10. 把离心管倒置于干净的吸水纸上5分钟，确保沉淀在管中。

**注意：在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5分钟）。

**注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验，但避免过度干燥DNA沉淀，因过度干燥会使DNA难于溶解。**

12. 加入**300 μl Buffer GE**，低速涡旋5秒，65℃孵育1小时溶解DNA，期间轻弹数次助溶。-20℃保存DNA。

**注意：如果DNA没有完全溶解，可室温过夜。**

### 三、从6-20 ml全血中提取基因组（以10 ml血液处理量为例）

1. 取**10 ml全血**于50 ml离心管（自备）中，加入**10 ml Buffer FG1**，上下颠倒混匀5次，**2,500×g**离心5分钟。

2. 再向离心管中加入**15ml Buffer FG1**，涡旋震荡，使沉淀完全分散。**2,500×g**离心5分钟，弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上，放置2分钟。

**注意：在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

3. 按照附表配制缓冲液FG2与Proteinase K的混合液（比例100:1）。

**注意：此混合液最好现用现配，并在配好后1h之内用完。**

4. 加入**5 ml Buffer FG2/Proteinase K混合液**，立即涡旋混匀至溶液无团块。

**注意：1）如果有多个样品同时操作，加入Buffer FG2/Proteinase K混合液后立即涡旋震荡，不要等所有样品都加完后再震荡。**

**2）通常涡旋震荡3-4次，每次5秒可以使沉淀充分悬浮，如果涡旋震荡后发现沉淀中含胶状物质可以再加入1ml BufferFG2/Proteinase K混合液，再次涡旋混匀。**

5. 65℃孵育30分钟，其间颠倒混匀数次。

**注意：如果样品颜色从红色变成橄榄绿说明蛋白消化完全。**

6. 加入**5 ml异丙醇**，上下颠倒彻底混匀直至看到DNA。

**注意：与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该至少上下颠倒离心管20次确保沉淀完全。**

7. **2,500×g**离心5分钟。

**注意：如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。**

8. 弃上清，并把离心管倒置于干净的吸水纸上吸干。

**注意：在管底可见白色的DNA沉淀，在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

9. 加入**5 ml 70%乙醇**，涡旋震荡5秒，**2,500×g**离心5分钟，弃上清。

**注意：如果沉淀贴壁不牢，可以适当延长离心时间或增大离心力。**

10. 把离心管倒置于干净的吸水纸上5分钟，确保沉淀在管中。

**注意：在极少情况下沉淀可能会松弛，所以要缓慢倒掉上清。**

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5分钟）。

**注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验，但避免过度干燥DNA沉淀，因过度干燥会使DNA难于溶解。**

12. 加入**1 ml Buffer GE**，低速涡旋5秒，65℃孵育1小时溶解DNA，期间轻弹数次助溶。-20℃保存DNA。

**注意：如果DNA没有完全溶解，可室温过夜。**

**附表：不同体积血液所需各种缓冲液用量**

	血液样品的体积 (µl)									
	100	300	1000	3000	5000	10000	20000			
Buffer FG1 (µl)	250	750	2500	7500	12500	25000	50000			
Buffer FG2 (µl)	50	150	500	1500	2500	5000	10000			
Proteinase K (µl)	0.5	1.5	5	15	25	50	100			
异丙醇 (µl)	50	150	500	1500	2500	5000	10000			
70%乙醇 (µl)	50	150	500	1500	2500	5000	10000			
Buffer GE (µl)	100	200	200	300	500	1000	1000			
补加 FG2 和 Proteinase K 混合液	10	30	100	300	500	1000	1000			

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途