目 录

简 介---- 2

原 理---- 2

试剂盒组成---- 3

保质期---- 3

准备工作---- 3

方案 1:血液 DNA 提取方案---- 4

方案 2:组织 DNA 提取方案---- 5

方案 3:细胞 DNA 提取方案---- 6

方案 4:植物 DNA 提取方案---- 7

常见问题回答---- 8

版本: 2018-01

简 介

SolPure DNA Kits 采用改良盐析法纯化方式，为血液样品、组织样品、培养细胞、口腔拭子，细菌等样品的基因组 DNA 提取提供一种安全而经济的解决方法。提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需用到任何昂贵的试剂，是目前核酸抽提中最为经济的试剂盒。试剂盒对样品用量无限制，可灵活调节各种用量的样品。得到的 DNA 可直接用于 PCR、酶切，Southern 杂交等实验。

原 理

SolPure DNA Kits 是改良的盐析法纯化方式。(血液样品在红细胞裂解液中裂解去除红细胞，离心收集白细胞)，组织、白细胞或培养细胞在裂解中裂解，DNA 释放到裂解液中，加入 RNASE A 消化去除 RNA；加入高盐溶液至裂解液中盐析沉淀蛋白质和杂质；离心去除沉淀得到只含 DNA 的上清液，加入异丙醇沉淀回收 DNA；70%乙醇洗涤去除盐分，最后加入 Buffer TE 溶解 DNA。

保 质 期

SolPure DNA Kits 可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。RNase A 和 Proteinase K 室温下运输，收到试剂盒后，把 RNase A 和 Proteinase K 保存于 2-8℃。低温保存或运输过程中，Buffer SDS 可能会有沉淀形成，需 37℃水浴让沉淀完全溶解。

组 成

SolPure HW DNA Kit

产品编号	D3317-01	D3317-02	D3317-03
可处理的组织量	10 次	50 次	250 次
10 x Buffer RBC	4 ml	50 ml	100 ml
Buffer STE	60 ml	250 ml	2 x 550 ml
Buffer SDS (20%)	4 ml	20 ml	90 ml
Buffer PPS	20 ml	90 ml	400 ml
Proteinase K	12 mg	50 mg	240 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	10 ml	20 ml
RNase A	5 mg	20 mg	60 mg
Buffer TE	10 ml	60 ml	250 ml
说明书	1	1	1

需要准备材料和工具

- 灭菌的 1.5ml 离心管，或 15ml 离心管，或 50ml 离心管
- <15,000 x g 小型离心机，或适合 15ml/50ml 离心管的离心机(2,000 x g)
- 用灭菌水把 10 x Buffer RBC 稀释成 1 x Buffer RBC，并于室温保存。
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入 Proteinase Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml。Proteinase K 干粉在 2-8℃保存一年，溶解的 Proteinase K 须保存于-20℃。
- 溶解 RNase A (15mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 RNase A 至终浓度为 15mg/ml，颠倒混匀让 RNase A 充分溶解。RNase A 干粉可在室温下保存，但溶解的 RNase A 须保存于-20~8℃。

方案 1. 血液和骨髓 DNA 提取

该方案适合于从 1ml 抗凝全血和骨髓样品中提取高分子量基因组 DNA。

1. 吸取 3ml 1 x Buffer RBC 至 15ml 离心管。
2. 加入 1ml 全血或骨髓至装有 1 x Buffer RBC 的离心管中，颠倒 10-15 次混匀。室温放置 5 分钟，期间颠倒混匀 2-3 次。2,000 x g 离心 5 分钟。
3. 倒弃或吸弃上清液，剩余~100µl 溶液和白细胞沉淀。
4. **加入 4.2 ml Buffer STE 和 40µl Proteinase K 至白细胞重悬液中，**涡旋混匀 15 秒充分打散沉淀。
5. 加入 0.3ml Buffer SDS 至重悬液中，颠倒混匀 10~15 次。50℃水浴 30 分钟，其间颠倒混匀数次。
6. 加入 15µl RNase A 至裂解液中。颠倒混匀数次，室温放置 10 分钟。
7. **加入 1.5ml Buffer PPS，**颠倒混匀 10~15 次，高速涡旋混匀 10 秒。冰上放置 10 分钟。2,000 x g 离心 5 分钟**。**
8. 小心转移 90%上清液至另一个新的 15ml 离心管中。加入 0.7 倍体积的异丙醇，颠倒离心管 15-30 次。
   若需去除小片段 DNA，用枪头或牙签挑出 DNA 沉淀，并在 1ml 70%乙醇浸泡 1~2 分钟后，转移至 13 步中，用 Buffer TE 溶解。
9. 2,000 x g 离心 5 分钟。倒弃上清液，离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
10. 加入 3ml 70%乙醇至 DNA 沉淀中。颠倒混匀 10~15 次。2,000 x g 离心 5 分钟。
11. 倒弃上清液，把离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
12. 短暂离心收集管壁上的液滴，小心吸尽残液。空气干燥 3 分钟。
13. **加入 250µl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中。**涡旋 5 秒。室温或 2-8℃ 放置过夜使 DNA 充分溶解。
14. 把 DNA 保存于 2-8℃ 或-20℃。

方案 2. 动物组织 DNA 提取(D3312)

该方案适合于从各种动物组织样品中提取高分子量基因组 DNA。

1. 剪取 30-100mg 动物组织，用液氮将样品研磨成粉末状，把样品转移至 15ml 离心管。
2. **加入 4.2 ml Buffer STE 和 40μl Proteinase K 至样品中，**涡旋混匀 15~20 秒充分打散样品。
3. **加入 0.3ml Buffer SDS 至重悬液中，颠倒混匀 10 次。**55℃振荡温育 30~60 分钟。
4. **加入 15μl RNase A 至裂解液中。**颠倒混匀 10 次，室温放置 15 分钟。
5. **加入 1.5ml Buffer PPS，**颠倒混匀 10 次，高速涡旋 10 秒。冰上放置 10 分钟。3,000~5,000 x g 离心 10 分钟**。**
6. 小心转移 90%上清液至另一个新的 15ml 离心管中。加入 0.7 倍体积的异丙醇，颠倒离心管 15-30 次。

   若需去除小片段 DNA，用枪头或牙签挑出 DNA 沉淀，并在 1ml 70%乙醇浸泡 1~2 分钟后，转移至 11 步中，用 Buffer TE 溶解。
7. 2,000 x g 离心 5 分钟。倒弃上清液，离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
8. 加入 3ml 70%乙醇至 DNA 沉淀中。颠倒混匀 10~15 次。2,000 x g 离心 5 分钟。
9. 倒弃上清液，把离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
10. 短暂离心收集管壁上的液滴，小心吸尽残液。空气干燥 3 分钟。
11. **加入 250~500μl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中。**涡旋 5 秒。室温或 2-8℃ 放置过夜使 DNA 充分溶解。
12. 把 DNA 保存于 2-8℃ 或-20℃。

方案 3: 培养细胞 DNA 提取(D3313)

该方案适合于从◆1-2 x 10^6，或■1-2 x 10^7 个培养细胞中提取高分子量基因组 DNA。

1. 转移 1~2 x10^7 个细胞培养液或胰酶消化液至 15ml 离心管中。
2. 500 x g 离心 10 分钟收集细胞。倒弃培养液，剩余 100μl 液体和细胞。
3. **加入 4.2 ml Buffer STE 和 20μl Proteinase K 至样品中，**涡旋混匀 15~30 秒充分打散样品。
4. **加入 0.3ml Buffer SDS 至重悬液中，颠倒混匀 10 次。**55℃振荡温育 15 分钟。
5. **加入 15μl RNase A 至裂解液中。**颠倒混匀 10 次，室温放置 20 分钟。
6. **加入 1.5ml Buffer PPS，**颠倒混匀 10 次，高速涡旋 10 秒。3,000~5,000 x g 离心 10 分钟**。**
7. 小心转移 90%上清液至另一个新的 15ml 离心管中。加入 0.7 倍体积的异丙醇，颠倒离心管 15-30 次。
   若需去除小片段 DNA，用枪头或牙签挑出 DNA 沉淀，并在 1ml 70%乙醇浸泡 1~2 分钟后，转移至 12 步中，用 Buffer TE 溶解。
8. 2,000 x g 离心 5 分钟。倒弃上清液，离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
9. 加入 3ml 70%乙醇至 DNA 沉淀中。颠倒混匀 10~15 次。2,000 x g 离心 5 分钟。
10. 倒弃上清液，把离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
11. 短暂离心收集管壁上的液滴，小心吸尽残液。空气干燥 3 分钟。
12. **加入 250~500μl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中。**涡旋 5 秒。室温或 2-8℃ 放置过夜使 DNA 充分溶解。
13. 把 DNA 保存于 2-8℃ 或-20℃。

方案 4: 植物 DNA 提取

该方案适合于从小于 300mg 植物样品中提取高分子量基因组 DNA。

1. 剪取 100-200mg 植物样品，用液氮将样品研磨成粉末状。把样品转移至 15ml 离心管。

2. **加入 4.2 ml Buffer STE 和 40μl Proteinase K 至样品中，**涡旋混匀 10 秒充分打散样品。
   处理多酚类样品，可以加入 PVP-40 至 Buffer STE 中，至终浓度为 2%(W/V)，加入巯基乙醇至 5%。

3. **加入 0.3ml Buffer SDS 至重悬液中，颠倒混匀 10 次。**55℃温育 30 分钟。

4. **加入 15μl RNase A 至裂解液中。**颠倒混匀 10 次，室温放置 10 分钟。

5. **加入 1.5ml Buffer PPS，**颠倒混匀 10 次，高速涡旋 10 秒。冰上放置 10 分钟。

6. 3,000~5,000 x g 离心 10 分钟**。**

7. 小心转移 90%上清液至另一个新的 15ml 离心管中。**加入 0.7 倍体积的异丙醇，颠倒离心管 15-30 次。**
   若需去除小片段 DNA，用枪头或牙签挑出 DNA 沉淀，并在 1ml 70%乙醇浸泡 1~2 分钟后，转移至 12 步中，用 Buffer TE 溶解。

8. 2,000 x g 离心 5 分钟。倒弃上清液，离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。

9. 加入 3ml 70%乙醇至 DNA 沉淀中。颠倒混匀 10~15 次。2,000 x g 离心 5 分钟。

10. 倒弃上清液，把离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。

11. 短暂离心收集管壁上的液滴，小心吸尽残液。空气干燥 3 分钟。

12. **加入 100μl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中。**涡旋 5 秒。室温或 2-8℃ 放置过夜使 DNA 充分溶解。

13. 把 DNA 保存于 2-8℃ 或-20℃。

常见问题回答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。Magen 技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现 象	原因及解决方法
产量低或纯度低	
细胞没有充分裂解	加入 1x Buffer RBC 之前，必须涡旋让细胞沉淀团在残液中充分重悬。加入 1xBuffer RBC 后，吸打或涡旋后，细胞沉淀团还没有消失，用移液枪吸打 10-15 次或在 37°C 水浴 10-60 分钟至沉淀团消失。
加入异丙醇后混匀不充分	加入异丙醇后，须颠倒混匀 30-50 次，或直至看到丝状的沉淀。
DNA 沉淀丢失	在倒弃上清液时，DNA 沉淀团被倒掉
蛋白质沉淀不完全	加入 Buffer PPS 后，必须高速涡旋 20 秒，让蛋白质充分沉淀。
蛋白质沉淀被吸出	蛋白质沉淀不紧密，重复涡旋 20 秒，冰上放置 5 分钟，再离心去除蛋白质沉淀。
DNA 溶解不充分	室温或 2-8°C 过夜让 DNA 充分溶解，其间偶尔颠倒混匀加速 DNA 的溶解。