杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030　电话：0571-87381295　传真：0571-87381297

精液 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

精液 DNA 纯化试剂盒 Cat. No.	5 次制备 4202005	50 次制备 4202050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 µl	1.2 ml
Buffer SP	100 µl	1 ml
Buffer SL	1.2 ml	12 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

1. Buffer SP 和蛋白酶 K 贮存液请于 - 20℃储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上（2~8℃储存的产品使用前应先产品恢复到室温后再使用）。

技术支持

杭州新景生物试剂发展有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn，电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从≤200 µl 新鲜的或者是冷冻贮存的精液中分离纯化总 DNA。精液标本经蛋白酶 K 消化后释放 DNA，添加乙醇促使 DNA 结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管和移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 水浴锅和旋涡震荡器
6. 可能需要 PBS 溶液

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 将水浴锅温度设置到 56℃，并将 Buffer TE 温育至 56℃。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 在1.5 ml离心管中加入20 μl蛋白酶K贮存液，再加入200 μl液化的精液。

* 如果从少于200 μl的精液中纯化DNA，补加PBS溶液使样本达到200 μl。

2. 加入15 μl Buffer SP，再加入200 μl Buffer SL，旋涡震荡约15秒混匀。

* 不要将蛋白酶K直接加入到Buffer SL中。

3. 将离心管置于56℃水浴10分钟。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。

4. 加入200 μl无水乙醇，旋涡震荡约15秒混匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。

* 对于精子含量比较高的精液样本，加入无水乙醇后可能会产生沉淀，此时应持续漩涡震荡直至沉淀分散消失，否则可能在后续的操作步骤中堵塞纯化柱。

5. 吸取步骤 5 中的溶液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于试剂盒提供的 2 ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μl Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μl Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，盖上管盖，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 100~200 μl 56℃温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。
* 增加所加Buffer TE的体积，能提高DNA的洗脱效率，但会降低DNA的浓度；减少所加Buffer TE的体积，则能提高DNA的浓度；但如果所加Buffer TE的体积小于100 μl，则洗脱的DNA浓度不再增加。

10. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于－20℃备用。