

精液/精子 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

精液/精子 DNA 纯化试剂盒	5 次制备	50 次制备
Cat. No.	4202005	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 μ l	1.2 ml
Buffer SP	100 μ l	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°C 储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30°C)，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°C，可延长产品的有效期至两年以上 (2~8°C 储存的产品使用前应先将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 $\leq 200 \mu$ l 新鲜的或者是冷冻贮存精液/精子中分离纯化总 DNA。样本经蛋白酶 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. 水浴锅和旋涡振荡器
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°C。
2. 将水浴锅温度设置到 56°C，并将 Buffer TE 温育至 56°C。
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做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

- 在1.5 ml离心管中加入20 μ l蛋白酶K贮存液，再加入200 μ l液化的精液。**
 - * 如果从少于200 μ l的精液中纯化DNA，补加PBS溶液使样本达到200 μ l。
 - * 如果是分离好的精子细胞，取 $\leq 1 \times 10^7$ 的精子，补加PBS溶液到200 μ l，旋涡振荡悬浮分散精子，再加入20 μ l蛋白酶K贮存液，进入步骤2操作。
- 加入15 μ l Buffer SP，再加入200 μ l Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。**
 - * 不要将蛋白酶K贮存液、Buffer SP直接加入到Buffer SL中。
- 将离心管置于56°C水浴10分钟。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。**
- 加入200 μ l无水乙醇，旋涡振荡约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样本，加入无水乙醇后可能会产生沉淀，此时推荐用移液枪反复吹打直至沉淀分散消失，否则可能在后续的操作步骤中堵塞纯化柱。
- 吸取步骤4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。
- 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 μ l 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。
- 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 μ l 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。
- 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。
- 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 μ l 56°C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 μ l，则可能因硅胶膜没有被充分浸润而降低DNA得率。
- 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°C备用。**