

# 精子基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）使用说明书

## 【预期用途】

精子基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）用于从去除上皮细胞和白细胞后的精液中提取精子基因组 DNA。

## 【检验原理】

去除体细胞（如上皮细胞和白细胞），精子在裂解吸附液和蛋白酶 K 的作用下基因组 DNA 与蛋白质分离，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，磁珠表面的硅胶高效吸附分离的 DNA；洗涤磁珠，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的。

## 【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-BMD02	去细胞缓冲液	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶
	消化液	250μL×1 支	500μL×1 支	1mL×1 支
	裂解吸附液 D	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	RNA 清除剂	750μL×1 支	1.5mL×1 支	3mL×1 瓶
	蛋白酶 K	1mL×1 支	2mL×1 支	4mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	磁珠	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	洗脱液 B	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

**蛋白酶 K:** 常温 (10-30°C) 运输, -20°C 保存;

**消化液和 RNA 清除剂:** 常温 (10-30°C) 运输, 2-8°C 保存;

**其他试剂:** 常温 (10-30°C) 运输保存。有效期 1 年。

## 【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1, RAW1 中乙醇含量低于 60% 会影响提取效果。
2. 提前配制 80% 乙醇水溶液, 乙醇水溶液中乙醇含量低于 80% 会影响提取效果。
3. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
4. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
5. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品, 但操作时最好做好必要的防护措施, 戴口罩手套, 并且在通风的生物安全柜中进行。
6. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

**【样本要求】**

新鲜或液氮保存的精液。

**【自备器械和试剂】**

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000\times g$ ）、振荡仪、金属浴、2mL 磁力架、1.5mL 离心管、生理盐水和无水乙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

**【操作步骤】**

1. 取适量精液，加入等体积的生理盐水，混匀。12,000 $\times g$  离心 1 分钟，弃上清，保留精液沉淀。

2. 在精液沉淀中加入 400 $\mu\text{L}$  去细胞缓冲液，充分悬浮精液沉淀后转移至 1.5mL 离心管，室温静置 3 分钟。

3. 12,000 $\times g$  离心 1 分钟，弃上清，保留精子沉淀。

4. 精子沉淀用 200 $\mu\text{L}$  生理盐水悬浮，加入 15 $\mu\text{L}$  RNA 清除剂，吹打混匀，42 $^{\circ}\text{C}$  孵育 5 分钟。

▶本试剂盒提取精子 DNA 时可能会有少量 RNA 残留，RNA 的残留会抑制某些下游酶实验。如果想获得无任何 RNA 残留的 DNA 提取物可选择此步；如果对 RNA 残留无特殊要求可直接进入第 5 步。

5. 加入 200 $\mu\text{L}$  裂解吸附液 D、5 $\mu\text{L}$  消化液和 20 $\mu\text{L}$  蛋白酶 K，充分混匀，瞬时离心，60 $^{\circ}\text{C}$  静置 孵 育 10 分 钟。

6. 开盖，加入 280 $\mu\text{L}$  异丙醇和 10 $\mu\text{L}$  混匀的磁珠，闭盖。室温 3,000rpm 振荡 1 分钟。

▶磁珠使用前必须充分混匀。

7. 取出离心管，瞬时离心。将离心管放于磁力架上，吸附磁珠 3 分钟。开盖，吸弃液体，保留 磁 珠。

▶由于各个实验室磁力架磁力不尽相同，吸附时间可以根据具体实验情况调整。

8. 加入 600 $\mu$ L RAW1, 闭盖。从磁力架上取下离心管, 充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

9. 将离心管放回磁力架, 吸附磁珠至液体清澈 (吸附过程中颠倒磁力架数次, 使离心管盖上残留的磁珠被充分回收)。开盖, 吸弃液体, 保留磁珠 (需吸干管底和管盖中的残留液体)。

**▶吸附磁珠务必至液体清澈。**

10. 加入 600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管, 充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

11. 将离心管放回磁力架, 吸附磁珠至液体清澈 (吸附过程中颠倒磁力架数次, 使离心管盖上残留的磁珠被充分回收)。开盖, 吸弃液体, 保留磁珠 (需吸干管底和管盖中的残留液体)。

**▶吸附磁珠务必至液体清澈。**

12. 加入 600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管, 用移液器吹打混匀, 使磁珠完全分散在乙醇水溶液中。转移乙醇水溶液中的磁珠至新的 1.5mL 离心管中。

**▶务必将 80%乙醇水溶液中的磁珠转移至新的 1.5mL 离心管中, 否则易导致离子残留过多。**

13. 将新的离心管放回磁力架, 吸附磁珠至液体清澈。开盖, 吸弃液体, 保留磁珠。

**▶吸附磁珠务必至液体清澈。**

14. 将离心管放入离心机, 闭盖瞬时离心 5 秒。

15. 将离心管放回 2mL 磁力架, 开盖, 吸弃残留液体。

16. 将离心管放入金属浴, 开盖, 50 $^{\circ}$ C 烘干 2 分钟。闭盖, 取出离心管。

**▶样本较多时, 取出离心管后必须闭盖, 以防磁珠过度干燥, 影响洗脱效果。**

17. 开盖，在离心管中加入 50 $\mu$ L 洗脱液 B，充分吹打混匀磁珠。闭盖，室温 1500rpm 振荡 3 分 钟。

---

►洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得低于 20 $\mu$ L。

18. 将离心管放入磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸取洗脱液转移至新的离心管中。洗脱液即可直接用于 PCR 反应，也可 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

---

►为了避免洗脱液中微量磁珠残留，洗脱液转移至新的离心管后，可以 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟，以彻底去除磁珠。

**【说明书编制日期】** 2024 年 01 月 25 日

**【基本信息】**

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：[www.wuxi-medtech.com](http://www.wuxi-medtech.com)

联系电话：173 1562 0564（微信同号）；

---

138 6175 7779 (微信同号)