



核酸提取或纯化试剂 说明书

【产品名称】

核酸提取或纯化试剂

【包装规格】

型号一：96次/盒，400次/盒

型号二：96次/盒

型号三：96次/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】

样品裂解后，在高盐存在时，DNA结合于硅基包被的磁珠表面，漂洗后，高纯度的DNA被洗脱于洗脱缓冲液或去离子水中。DNA得率与样品的类型、储存条件、时间以及个体间差异有很大关系。

【主要组成成分】

型号一：瓶装型

试剂名称	96次/盒		400次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	50 mL/瓶	1瓶	105 mL/瓶	2瓶
漂洗缓冲液1	55 mL/瓶	1瓶	110 mL/瓶	2瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	22.5 mL/瓶	1瓶	45 mL/瓶	2瓶
洗脱缓冲液	11 mL/瓶	1瓶	45 mL/瓶	1瓶
磁珠悬浮液	1.3 mL/支	2支	11 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支	9 mL/瓶	1瓶

需要实验者自行准备的试剂：无水乙醇（分析纯）。

型号二：32通道预装板型

试剂名称	96次/盒	
	规格	数量
96孔预装板	1块	6
8联深孔磁套	2条/包	6包
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支

型号三：96通道预装板型

试剂名称	96次/盒	
	规格	数量
样本板1	1块	1
样本板2	1块	1
漂洗板1	1块	1
漂洗板2	1块	1
漂洗板3	1块	1
洗脱板	1块	1
磁套板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL/支	4支

【储存条件及有效期】

瓶装型磁珠悬浮液2-8℃储存，其他4-30℃保存，有效期12个月。

可在常温运输，运输时间建议不超过7天。

【样本要求】

1. 适用标本类型：血浆、血清、淋巴细胞、无细胞体液等样本。
2. 标本处理与保存：血清及血浆样本按常规方法制备，新鲜样本应尽快处理或分装后于-70℃冻存，避免反复冻融。

【自备仪器、试剂】

型号一：瓶装型

1. 手动单管提取：
 - 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
 - 2) 2/15 mL磁力架——货号：CW2594
 - 3) 无水乙醇
2. 与康为CWE3200全自动核酸提取仪的匹配：
 - 1) 康为CWE3200全自动核酸提取仪
 - 2) 无水乙醇
 - 3) 96孔深孔板——货号：CW2523、8联深孔磁套——货号：CW2524
3. 与康为CWE960全自动核酸提取仪的匹配：
 - 1) 康为CWE960全自动核酸提取仪
 - 2) 无水乙醇
 - 3) 96孔深孔板——货号：CW2523、96深孔板磁套——货号：CW2532

型号二：32通道预装板型

与康为CWE2100或CWE3200全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 康为CWE2100或CWE3200全自动核酸提取仪

型号三：96通道预装板型

与康为CWE960全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 康为CWE960全自动核酸提取仪

【检验方法】

型号一：瓶装型

- 1.1 实验前准备：向漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入无水乙醇并做好标记。
- 1.2 向2 mL离心管中加入20 μL 蛋白酶K溶液。
- 1.3 向上一步的离心管中加入300 μL 血清/血浆或其他无细胞体液样品。
注意：1) 冻存样品使用前请平衡至室温，溶化后颠倒样品储存管使其混匀。
- 1.4 向上一步的离心管中加入480 μL 裂解缓冲液，涡旋振荡5秒钟使其充分混匀后将离心管放于56°C、1300 rpm的恒温混匀仪上振荡裂解10分钟。
注意：1) 如无恒温混匀仪，需将离心管放于56°C水浴锅或干浴器中孵育10分钟，期间每隔2分钟涡旋振荡5秒钟。
2) 如果样品体积大于或小于300 μL ，裂解缓冲液和磁珠悬浮液的用量需按比例进行调整，且磁珠悬浮液的用量不应小于10 μL 。
- 1.5 向上一步离心管中加入25 μL 磁珠悬浮液（磁珠悬浮液加入前需涡旋震荡30秒钟使其充分混匀，样本多时每隔几个样混匀一次），涡旋震荡5秒钟，使其充分混匀后将离心管放于25°C、1300 rpm的恒温混匀仪上振荡5分钟。
注意：1) 如无恒温混匀仪，可将离心管连续颠倒混匀10分钟。
- 1.6 将上一步的离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管的侧壁上时彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上），期间避免接触磁珠。
- 1.7 向离心管中加入500 μL 漂洗缓冲液1后，将离心管从磁力架上取下，涡旋震荡5秒钟后放于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡2分钟。
注意：如无恒温混匀仪，可将离心管涡旋振荡10秒钟使磁珠充分悬浮于漂洗液中。
- 1.8 将上一步的离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管的侧壁上后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上），期间避免接触磁珠。
注意：弃去溶液时，如离心管盖上有残留溶液，需用移液器进一步去除。
- 1.9 向离心管中加入500 μL 漂洗缓冲液2（使用前检测是否加入无水乙醇），将离心管从磁力架上取下，涡旋震荡5秒钟后放于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡2分钟。
注意：如无恒温混匀仪，可将离心管涡旋振荡10秒钟使磁珠充分悬浮于漂洗液中。
- 1.10 将上一步的离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管的侧壁上后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上），期间避免接触磁珠。
注意：弃去溶液时，如离心管盖上有残留溶液，需用移液器进一步去除。
- 1.11 重复步骤1.9-1.10。

- 1.12 将离心管从磁力架上取下短暂离心，之后将离心管重新放于磁力架上，用移液器进一步去除管底溶液。
- 1.13 保持离心管固定于磁力架上，开盖室温放置5-10分钟，使乙醇挥发干净。
注意：乙醇残留会抑制后续的酶促反应，晾干时确保乙醇挥发干净。但也不能干燥过久，否则核酸难以被洗脱。观察磁珠表面哑光且磁珠无干裂即可。
- 1.14 向离心管中加入30-100 μ L洗脱缓冲液，将离心管从磁力架上取下，用移液器吹吸使磁珠完全重悬于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上振荡洗脱10分钟。
注意：1) 通常，提高洗脱体积可以增加DNA得率，降低洗脱体积可以提高DNA浓度。建议根据后续实验的需求确定洗脱体积。
 2) 如磁珠未能振荡至完全分散状态，会降低提取得率。
 3) 如无恒温混匀仪，可将离心管放于56 $^{\circ}$ C水浴锅或干浴器中孵育15分钟，期间每隔3分钟涡旋振荡5秒钟。
- 1.15 将上一步的离心管放置于磁力架上静置2分钟，待磁珠完全吸附后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存备用。

2. 与CWE3200匹配

- 2.1 产品与CWE3200匹配后可一次性从1-32份体液样本中提取游离DNA。
- 2.2 按下表向96深孔板中加入相应试剂。

位置	试剂及用量
1&7 列	蛋白酶K: 20 μ L 血浆: 300 μ L 裂解缓冲液: 480 μ L
2&8 列	漂洗缓冲液1: 500 μ L
3&9 列	漂洗缓冲液2: 500 μ L 磁珠悬浮液: 25 μ L
4&10 列	漂洗缓冲液2: 500 μ L
6&12 列	洗脱缓冲液: 65 μ L

注意：① 1&7列按表中顺序添加试剂。

②使用前检测漂洗缓冲液2是否加入无水乙醇。

③磁珠悬浮液加入前需涡旋震荡30秒钟使其充分混匀，样本多时每隔几个样混匀一次。磁珠悬浮液可与漂洗缓冲液2根据样本数量预混然后再加入。

2.3 打开CWE3200仪器，运行程序，按照仪器提示将深孔板与磁套放入仪器中。

2.4 待程序运行结束，取出深孔板。将6&12 列中洗脱液转移至-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存。

3. 与CWE960匹配

3.1 产品与CWE960匹配后可一次性从1-96份体液样本中提取游离DNA。

3.2 按下表向96深孔板中加入相应试剂（注意：按表中顺序添加试剂）。

位置	试剂及用量
样本板	蛋白酶K: 20 μ L 血浆: 300 μ L 裂解缓冲液: 480 μ L
漂洗板1	漂洗缓冲液1: 500 μ L
漂洗板2	漂洗缓冲液2: 500 μ L 磁珠悬浮液: 25 μ L 磁套板
漂洗板3	漂洗缓冲液2: 500 μ L
洗脱板	洗脱缓冲液: 65 μ L

注意：①样本板按表中顺序添加试剂。

②使用前检测漂洗缓冲液2是否加入无水乙醇。

③磁珠悬浮液加入前需涡旋震荡30秒钟使其充分混匀，样本多时每隔几个样混匀一次。磁珠悬浮液可与漂洗缓冲液2根据样本数量预混然后再加入。

3.3 打开CWE960仪器，运行程序，按照仪器提示将深孔板与磁套放入仪器中。

3.4 待程序运行结束，取出深孔板。将洗脱板用封口膜封闭后-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存。

型号二：32通道预装板型

1. 将96孔预装板从试剂盒中取出放入水平离心机300 g离心10秒钟。
2. 将深孔板从离心机中取出，小心去除热封膜，期间防止深孔板震动。
3. 向深孔板的1、7列按顺序依次加入300 μ L的血浆、20 μ L的蛋白酶K。
4. 将加入样本的深孔板放入仪器中，之后磁棒套固定在磁棒套架上。
5. 运行程序。
6. 待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。
7. 将深孔板6、12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存。

型号三：96通道预装板型

1. 将预装板从试剂盒中取出放入水平离心机中300 g离心10秒钟。
2. 将预装板从离心机中取出，小心去除热封膜，期间防止深孔板震动。
3. 向样本板1、2每孔中按顺序依次加入300 μ L的血浆、20 μ L的蛋白酶K。
4. 将磁套板置于漂洗板2中。
5. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	CWE960位置	试剂及用量
样本板1	1	裂解缓冲液: 480 μ L
样本板2	2	裂解缓冲液: 480 μ L
漂洗板1	3	漂洗缓冲液1: 500 μ L
漂洗板2 与磁套板	4	漂洗缓冲液2: 500 μ L 磁珠悬浮液: 25 μ L
漂洗板3	5	漂洗缓冲液2: 500 μ L
洗脱板	6	洗脱缓冲液: 65 μ L

6. 运行程序。

步骤	盘位	温度	搅拌速度	搅拌时间	循环	磁吸次数	磁吸时间	风干时间
1	4	装磁棒套						
2	4	-	中速	10 s	1	3	10 s	-
3	1	-	快速	2 min	3	3	10 s	-
			中速	3 min				
			停止	30 s				
4	2	-	快速	2 min	3	3	10 s	-
			中速	3 min				
			停止	30 s				
5	3	-	中速	45 s	1	3	10 s	-
6	4	-	中速	45 s	1	3	10 s	-
7	5	-	中速	45 s	1	3	10 s	-
8	6	-	-	-	-	-	-	5 min
9	6	56°C	中速	5 min	1	3	20 s	-
10	5	-	中速	4 min	1	3	10 s	-
11	6	-	-	-	-	-	-	5 min
12	6	56°C	中速	5 min	1	3	20 s	-
13	1	卸磁棒套						

7. 程序运行结束后，将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中-20 \pm 5°C保存。

【注意事项】

型号一：瓶装型

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取得率低。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在漂洗缓冲液2中加入无水乙醇并做好标记。
3. 磁珠悬浮液严禁冰冻和高速离心，否则可能会对磁珠悬浮液造成不可逆的损害。
4. 磁珠悬浮液在使用前需涡旋振荡30秒使其充分混匀。

型号二、型号三：32通道预装板型、96通道预装板型

1. 在实验前，应仔细阅读本说明书。
2. 96孔预装板严禁冰冻。
3. 实验过程注意佩戴口罩，手套及实验服，实验中产生的废液应收集，按照医疗企业废液标准处理。