



# 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】

瓶装I型：100次/盒；400次/盒；

瓶装II型：96次/盒

预装II、IV型：96次/盒

预装III、V型：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】

本产品主要原理如下：

1. 使用裂解液实现细胞裂解、DNA的释放。
2. 磁珠可以特异地吸附DNA，通过洗涤，去除DNA以外的杂质。
3. 洗脱液解离吸附在磁珠上的DNA，得到纯度和浓度均很高的DNA。

## 【主要组成成分】

瓶装I型	100 次/盒		400 次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	24 mL/瓶	1 瓶	96 mL/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液 1 (浓缩液)	80 mL/瓶	1 瓶	80 mL/瓶	4 瓶
漂洗缓冲液 2 (浓缩液)	50 mL/瓶	1 瓶	50 mL/瓶	4 瓶
漂洗缓冲液 3	96 mL/瓶	1 瓶	192 mL/瓶	2 瓶
洗脱缓冲液	30 mL/瓶	1 瓶	96 mL/瓶	1 瓶
蛋白酶 K	25 mg/支	2 支	180 mg/瓶	1 瓶
蛋白酶 K 保存液	1.25 mL/支	2 支	5 mL/支	2 支
磁珠悬浮液	1 mL/瓶	2 瓶	8 mL/瓶	1 瓶

瓶装II型	96 次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液	24 mL/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液1	80 mL/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液2 (浓缩液)	60 mL/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液3 (浓缩液)	26 mL/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液4	80 mL/瓶	1 瓶
洗脱缓冲液	30 mL/瓶	1 瓶
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
磁珠悬浮液	1 mL/支	2支

预装II、IV型	96次/盒	
试剂名称	规格	数量
96孔预装板	1块	6
蛋白酶K	1.25 mL/支	2
8联深孔磁套	2条/包	6
磁珠悬浮液	1mL/支	2

预装III型、V型	96次/盒	
试剂名称	规格	数量
样本板	1块	1
漂洗板1	1块	1
漂洗板2	1块	1
漂洗板3	1块	1
漂洗板4	1块	1
洗脱板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL/支	2
磁珠悬浮液	1 mL/支	2
磁套板	1个	1

## 【储存条件及有效期】

4-30°C保存，有效期12个月。

可在4-30°C运输，运输时间建议不超过7天。

## 【样本要求】

1. 适用样本类型：抗凝全血、唾液、细胞。
2. 样本处理与保存：新鲜样本应尽快处理或-70°C冻存，避免反复冻融。
3. 样本运输：应采用冰壶或者泡沫箱加冰或干冰密封运输。

## 【自备仪器、试剂】

瓶装I、II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) 异丙醇、无水乙醇
2. 手动96孔深孔板提取:
  - 1) 恒温混匀仪——货号: CW2593
  - 2) 废液抽吸系统——推荐品牌台湾洛科
  - 3) 手动连续分液器——推荐品牌Eppendorf
  - 4) 电动连续分液器——推荐品牌Eppendorf
  - 5) 手动连续分液器分液管 (25 mL) ——推荐品牌Eppendorf
  - 6) 96孔板磁力架——货号: CW2595
  - 7) 异丙醇、无水乙醇
3. 磁棒法磁珠自动提取系统:
  - 1) 磁棒法磁珠自动提取系统——建议品牌Thermo Fisher
  - 2) 异丙醇、无水乙醇

预装II、IV型: 康为CWE2100全自动核酸提取仪, 或其他全自动核酸提取仪

预装III、V型: 康为CWE960全自动核酸提取仪, 或其他全自动核酸提取仪

## 【检验方法】

瓶装I型: 向蛋白酶K中加入指定用量的蛋白酶K保存液使其溶解, 终浓度为20 mg/mL, -20°C保存。

	100 次/盒	400 次/盒
蛋白酶 K 保存液	每支加入 1.25 mL	加入 9 mL

1. 手动单管操作
  - 1.1 向1.5 mL的离心管中加入20  $\mu$ L蛋白酶K溶液, 之后加入200  $\mu$ L的血液。

注意: 1) 冷冻抗凝血液需提前在室温 (15-30°C) 下放置, 融化混匀。

2) 如血液体积大于或小于200  $\mu$ L, 蛋白酶K、裂解缓冲液和异丙醇与磁珠混合物的用量需按比例调整。
  - 1.2 向离心管中加入200  $\mu$ L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水浴锅中孵育15分钟, 期间涡旋震荡混匀2次。

- 1.3 将离心管从水浴锅中取出，短暂离心后室温放置5分钟。加入彻底混匀的320  $\mu\text{L}$ 异丙醇与磁珠混合物，涡旋震荡混匀5秒钟后将离心管放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟或将离心管连续颠倒混匀10分钟。
- 1.4 将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侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
- 1.5 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1（使用前请检查是否需要加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）。
- 1.6 重复步骤1.5。
- 1.7 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（使用前请检查是否需要加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）。
- 1.8 重复步骤1.7。
- 1.9 以下操作步骤二选一：
  - 1.9.1 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5-10分钟，使乙醇挥发干净。

**注意：如果离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入750  $\mu\text{L}$ 无水乙醇。盖盖后颠倒离心管（保持离心管固定于磁力架上），之后彻底弃去无水乙醇。**
  - 1.9.2 保持离心管固定于磁力架上，向离心管中加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液3，待悬起的磁珠重新吸附于离心管侧壁后充分弃去溶液。
- 1.10 将离心管从磁力架上取下，加入50-200  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟，或将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10分钟，期间每隔3分钟涡旋震荡10秒钟。
- 1.11 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 2. 手动96孔深孔板操作

2.1 向2 mL的96孔深孔板（简称“深孔板”）中加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K溶液，之后加入200  $\mu\text{L}$ 血液，并记录每孔中所加血液名称。

**注意：1）**可将蛋白酶K溶液预先分装于8连管中，每管加入260  $\mu\text{L}$ 。之后，用8通道移液器将蛋白酶K溶液分装于96孔深孔板中。

**2）**血液需加到96孔深孔板的底部，避免血液触碰到孔的上部。

2.2 向深孔板中用电动连续分液器或8通道移液器加入200  $\mu\text{L}$ 裂解缓冲液。

2.3 将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟，盖上硅胶盖后将深孔板放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育15分钟，之后再深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟。

2.4 将深孔板从恒温混匀仪上取下，用电动连续分液器或8通道移液器向深孔板中加入彻底混匀的320  $\mu\text{L}$ 磁珠与异丙醇混合物。盖上硅胶盖后，立即将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟。

2.5 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

**注意：用废液抽吸系统去除溶液时需将真空泵调节至较小的负压值，使溶液以一个合适的速度被吸走，速度过快会造成磁珠的丢失。**

2.6 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1（加入前检查是否需要加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。

2.7 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

2.8 重复步骤2.6-2.7。

2.9 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（加入前检查是否需要加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。

2.10 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

2.11 重复步骤2.9-2.10。

2.12 用手动连续分液器向96孔深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 无水乙醇，之后将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1分钟。

2.13 将板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

2.14 保持深孔板固定于96孔板磁力架上，将深孔板倒置于干净的吸水纸上放置2分钟。之后将深孔板从96孔板磁力架上取下放于100 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上静置5分钟。

- 2.15 用电动连续分液器或8通道移液器向深孔板加入100-200  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液，之后将深孔板放于100 $^{\circ}\text{C}$ （因该恒温混匀仪为悬空加热，洗脱液实际温度在50-60 $^{\circ}\text{C}$ 之间）、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀10分钟。
- 2.16 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟，用8通道移液器溶液转移至96孔PCR板中盖盖后-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

瓶装II型：向蛋白酶K中加入指定用量的蛋白酶K保存液使其溶解，终浓度为20 mg/mL，-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

	100 次/盒	400 次/盒
蛋白酶 K 保存液	每支加入 1.25 mL	加入 9 mL

瓶装II型内液体蛋白酶K常温放置。

## 1 手动单管操作

- 1.1 向1.5 mL的离心管中加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K溶液，之后加入200  $\mu\text{L}$ 的血液。
- 注意：1) 冷冻抗凝血液需提前在室温（15-30 $^{\circ}\text{C}$ ）下放置，融化混匀。**
- 2) 如血液体积大于或小于200  $\mu\text{L}$ ，蛋白酶K、裂解缓冲液和异丙醇与磁珠混合物的用量需按比例调整。**
- 1.2 向离心管中加入200  $\mu\text{L}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育15分钟，期间涡旋震荡混匀2次。
- 1.3 将离心管从水浴锅中取出，短暂离心后室温放置5分钟。加入彻底混匀的320  $\mu\text{L}$ 异丙醇与磁珠混合物，涡旋震荡混匀5秒钟后将离心管放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟或将离心管连续颠倒混匀10分钟。
- 1.4 将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侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
- 1.5 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）。
- 1.6 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（使用前请检查是否需要加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）。

- 1.7 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液3（使用前请检查是否需要加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）
- 1.8 将离心管从磁力架上取下，加入750  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液4后涡旋点震1分钟或涡旋振荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将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侧壁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）。
- 1.9 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5-10分钟，使乙醇挥发干净。  
**注意：如果离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入750  $\mu\text{L}$ 无水乙醇。盖盖后颠倒离心管（保持离心管固定于磁力架上），之后彻底弃去无水乙醇。**
- 1.10 将离心管从磁力架上取下，加入50-200  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟，或将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10分钟，期间每隔3分钟涡旋震荡10秒钟。
- 1.11 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 2 手动96孔深孔板操作

- 2.1 向2 mL的96孔深孔板（简称“深孔板”）中加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K溶液，之后加入200  $\mu\text{L}$ 血液，并记录每孔中所加血液名称。  
**注意：1) 可将蛋白酶K溶液预先分装于8连管中，每管加入260  $\mu\text{L}$ 。之后，用8通道移液器将蛋白酶K溶液分装于96孔深孔板中。**  
**2) 血液需加到96孔深孔板的底部，避免血液触碰到孔的上部。**
- 2.2 向深孔板中用电动连续分液器或8通道移液器加入200  $\mu\text{L}$ 裂解缓冲液。
- 2.3 将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟，盖上硅胶盖后将深孔板放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育15分钟，之后再深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟。
- 2.4 将深孔板从恒温混匀仪上取下，用电动连续分液器或8通道移液器向深孔板中加入彻底混匀的320  $\mu\text{L}$ 磁珠与异丙醇混合物。盖上硅胶盖后，立即将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟。
- 2.5 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

- 2.6 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1，之后将深孔板固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。
- 2.7 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。
- 2.8 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（使用前请检查是否需要加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。
- 2.9 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。
- 2.10 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液3（使用前请检查是否需要加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。
- 2.11 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。
- 2.12 用手动连续分液器向深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液4，之后将深孔板固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。
- 2.13 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。
- 2.14 用手动连续分液器向96孔深孔板中加入500  $\mu\text{L}$ 无水乙醇，之后将深孔板固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1分钟。
- 2.15 将板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。
- 2.16 保持深孔板固定于96孔板磁力架上，将深孔板倒置于干净的吸水纸上放置2分钟。之后将深孔板从96孔板磁力架上取下放于100°C、1600 rpm的恒温混匀仪上静置5分钟。
- 2.17 用电动连续分液器或8通道移液器向深孔板加入100-200  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液，之后将深孔板放于100°C（因该恒温混匀仪为悬空加热，洗脱液实际温度在50-60°C之间）、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀10分钟。
- 2.18 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟，用8通道移液器溶液转移至96孔PCR板中盖盖后-20°C保存备用。



3. 与KingFisher Duo的匹配

产品与KingFisher Duo匹配后可从12份体积为200 μL的不同血液中提取基因组DNA。

3.1 按下表将样品与试剂加入相应位置：

瓶装I型：

名称	位置	试剂及用量
DW 96深孔板	A1-A12	蛋白酶K溶液: 20 μL 血液样本: 200 μL 裂解缓冲液: 200 μL
	B1-B12	KF Duo 12道磁套
	C1-C12	漂洗缓冲液1: 700 μL
	D1-D12	漂洗缓冲液1: 700 μL
	E1-E12	漂洗缓冲液2: 700 μL
	F1-F12	漂洗缓冲液2: 700 μL
	G1-G12	漂洗缓冲液3: 700 μL
KF Duo 洗脱条	A1-A12	洗脱缓冲液: 100 μL

瓶装II型：

名称	位置	试剂及用量
DW 96深孔板	A1-A12	蛋白酶K溶液: 20 μL 血液样本: 200 μL 裂解缓冲液: 200 μL
	B1-B12	KF Duo 12道磁套
	C1-C12	漂洗缓冲液1: 700 μL
	D1-D12	漂洗缓冲液2: 700 μL
	E1-E12	漂洗缓冲液3: 700 μL
	F1-F12	漂洗缓冲液3: 700 μL
	G1-G12	漂洗缓冲液4: 700 μL
KF Duo 洗脱条	A1-A12	洗脱缓冲液: 100 μL

3.2 启动软件BindIt，导入CWY005\_Duo\_200程序。将加入样本与试剂的DW 96深孔板与KF Duo洗脱条放入KingFisher Duo仪器中后执行程序CWY005\_Duo\_200。

3.3 约18分钟后仪器暂停，取出DW 96深孔板，向A1-A12孔中加入320 μL彻底混匀的磁珠与异丙醇混合物。

3.4 将DW 96深孔板重新放入仪器中，继续运行程序。约30分钟后程序运行结束。

3.5 取出DW 96深孔板与KF Duo洗脱条，将洗脱条中的DNA溶液转移至1.5 mL离心管中，-20℃保存。

4. 与KingFisher Flex的匹配

产品与KingFisher Flex匹配后可从96份体积为200 μL的不同血液中提取血液基因组DNA。

按下表将样品与试剂加入相应位置：

#### 4.1 瓶装I

名称	类型	试剂及用量
样本板	DW 96深孔板	蛋白酶K溶液: 20 μL 血液样本: 200 μL 裂解缓冲液: 200 μL
漂洗板I	DW 96深孔板	漂洗缓冲液1: 700 μL KF 96 DW磁套
漂洗板II	DW 96深孔板	漂洗缓冲液1: 700 μL
漂洗板III	DW 96深孔板	漂洗缓冲液2: 700 μL
漂洗板IV	DW 96深孔板	漂洗缓冲液3: 700 μL
洗脱板	DW 96深孔板	洗脱缓冲液: 100 μL

#### 瓶装II型:

名称	类型	试剂及用量
样本板	DW 96深孔板	蛋白酶K溶液: 20 μL 血液样本: 200 μL 裂解缓冲液: 200 μL
漂洗板I	DW 96深孔板	漂洗缓冲液1: 700 μL KF 96 DW磁套
漂洗板II	DW 96深孔板	漂洗缓冲液2: 700 μL
漂洗板III	DW 96深孔板	漂洗缓冲液3: 700 μL
漂洗板IV	DW 96深孔板	漂洗缓冲液4: 700 μL
洗脱板	DW 96深孔板	洗脱缓冲液: 100 μL

- 启动软件BindIt, 导入CWY005\_Flex\_200程序。将加入试剂的DW 96深孔板按顺序放入仪器中的相应位置后执行CWY005\_Flex\_200程序。
- 约20分钟后仪器暂停, 取出样本板, 向样本板中加入320 μL彻底混匀的磁珠与异丙醇混合物。
- 将样品板重新放入仪器中, 继续执行程序。约30分钟后程序执行完成。
- 取出洗脱板, 用膜封闭后-20℃保存。

预装II、IV型: 产品与全自动核酸提取仪器匹配后可一次性从1-32份样本中提取DNA。

- 在血液96孔预装板的第1列、第7列每孔中加入300 μL样本(样本需充分溶解)和20 μL蛋白酶K, 运行程序,
- 约23分钟后仪器暂停, 将深孔板从仪器中取出, 向第1&7列中加入320 μL充分混匀的异丙醇磁珠混合物。继续运行程序。
- 约35分钟程序运行结束, 将深孔板第6&12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中低温保存。

预装III、V型: 产品与全自动核酸提取仪器匹配后可一次性从1-96份样本中提取DNA。

- 在样本板每孔中加入300 μL样本(样本需充分溶解)和20 μL蛋白酶K, 运行程序,
- 约23分钟后仪器暂停, 将样本板从仪器中取出, 向样本板每孔中加入320 μL充分混匀的异丙醇磁珠混合物, 继续运行程序。
- 约35分钟程序运行结束, 将洗脱板中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中低温保存。

## 【注意事项】

瓶装I型配制好的蛋白酶K溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性；

瓶装II型、预装II、IV型、预装III、V型试剂盒内液体蛋白酶K溶液室温放置。

异丙醇与磁珠混合物的制备（以制备提取10个样品所需量为例）：

1) 向合适容量（加入异丙醇和磁珠后总体积小于离心管容积的 $\frac{2}{3}$ ）的离心管中加入3.3 mL  $【0.3 \times (10+1) = 3.3】$ 的异丙醇。

注意：如用移液器加入异丙醇，需用移液器将枪头在异丙醇吹吸两次后再缓慢吸取异丙醇。

2) 向上一步的离心管中加入220  $\mu\text{L}$   $【20 \times (10+1) = 220】$ 磁珠。

注意：磁珠加入前需涡旋振荡20秒使其充分混匀，异丙醇与磁珠混合物使用前需涡旋振荡20秒钟使其成为均一的溶液。

3) 异丙醇与磁珠混合物使用前需涡旋振荡10秒钟使其成为均一的溶液。

磁珠悬浮液严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。

样品应避免反复冻融，否则会导致提取得到的DNA片段较小且提取得率低。

使用前应按试剂瓶标签在漂洗缓冲液中加入无水乙醇并做好标记。

6. 如裂解缓冲液中出现沉淀，请在56℃水浴锅中重新溶解，摇匀后即可使用。
7. 实验过程中，磁珠在溶液中的充分混匀对于提取的得率与纯度都有很大的影响。实验过程中务必使磁珠与溶液充分混匀。不同厂家生产的恒温混匀仪震荡混匀效果有一定差异，实验过程中请注意观察磁珠状态。如出现磁珠贴壁等未充分混匀的现象，请用移液器吹吸混匀或调整震荡频率。