



# Magbead Micro Sample DNA Kit

## 磁珠法微量样本DNA提取试剂盒

目录号：CW3064S（96 preps）

保存条件：室温（15-30℃）保存

### 产品内容

Component	CW3064S 96 preps
Buffer SL	60 mL
Buffer GL	25 mL
Buffer GW1（concentrate）	80 mL
Buffer GW2（concentrate）	50 mL
RNase-Free Water	10 mL
Proteinase K	2×25mg
Proteinase K Storage Buffer	2×1.25 mL
Magbeads PN	2×1 mL

### 产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从微量样本中提取DNA的方法，适用于新鲜或冷冻的动物组织、毛发、指甲、微量血液、微量唾液、尿液、骨骼、牙齿等多种样本。细胞裂解后，DNA结合于硅基包被磁珠表面。漂洗后，高纯度的DNA洗脱于去离子水中。纯化得到的DNA纯度高，完整度高。可以直接用于PCR、Real-time PCR、SNP基因分型、STR基因分型、二代测序等下游实验。

## 自备仪器、试剂

1. 康为全自动核酸提取仪（CWE2100）
2. 96 DW Plate（CW2523）
3. 8 channel Comb（CW2524）
4. 2/15 mL 磁力架（CW2594）
5. 恒温混匀仪（CW2593）
6. 无水乙醇、异丙醇

## 实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
2. 使用前请检查Buffer SL、Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer SL、Buffer GL于56℃水浴重新溶解。
3. Magbeads PN严禁冰冻和高速离心，否则可能会对Magbeads PN造成不可逆的损害。Magbeads PN每次使用时请充分振荡混合均匀。
4. 向Proteinase K中加入1.25 mL Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，以免影响其活性。

表1 根据不同样本类型提取DNA所需的样本量和Buffer SL用量参照

样本类型	样本量	Buffer SL用量
微量血液、唾液	1-100 $\mu$ L左右	180 $\mu$ L
血片、血斑	直径3 mm-6 mm, 1-2片	180 $\mu$ L
干拭子	1支	360 $\mu$ L
湿拭子	10-100 $\mu$ L	180 $\mu$ L
毛发（带毛囊）	发根1-5 cm	180 $\mu$ L
指甲	0.01-0.1 g左右	180 $\mu$ L
骨骼、牙齿	0.01-0.1 g左右	260 $\mu$ L
组织	1-10 mg左右	180 $\mu$ L
烟头	1-3片	180 $\mu$ L
尿液	1-20 mL	180 $\mu$ L

## 操作步骤

### 一、微量血液或唾液样本

1. 取约1-10  $\mu$ L的血液或唾液置于离心管（自备）中，加入180  $\mu$ L Buffer SL、200  $\mu$ L Buffer GL和20  $\mu$ L Proteinase K，涡旋震荡10秒。

## 手动操作步骤

2. 置于恒温孵育器80℃、1200 rpm孵育10分钟后取下。
3. 加入200 μL 异丙醇与20 μL磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500 μL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。  
**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**
6. 向离心管中加入500 μL Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
9. 向离心管中加入50-100 μL RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20℃保存备用。

## 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Sample: Blood Buffer SL: 180 μL Buffer GL: 200 μL Proteinase K: 20 μL
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 μL
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 μL
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 μL
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 μL

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-1程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200 μL异丙醇与20 μL磁珠。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20℃保存备用。

## 二、毛发或指甲样本

- 1a. 取约1-5 cm发根部（带毛囊）的样本，剪成0.5-1 cm的小段，置于离心管中，加入180 μL Buffer SL，20 μL Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56℃、1200 rpm孵育至少1小时，形成Lysate。

- 1b. 取10-100 mg左右接近皮肤部位的指甲样本，剪碎（或用液氮研磨）后置于离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育至少1小时，形成Lysate。

### 手动操作步骤

2. 加入200  $\mu\text{L}$  Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育10分钟后取下。  
**注意：加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。**
3. 加入200  $\mu\text{L}$  异丙醇与20  $\mu\text{L}$  磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。  
**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**
6. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
9. 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu\text{L}$
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu\text{L}$

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200  $\mu\text{L}$  异丙醇与20  $\mu\text{L}$  磁珠。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96 DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 三、拭子样本

- 1a. 湿拭子: 取10-100  $\mu\text{L}$ 存放拭子的保存液, 置于离心管中, 加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL, 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育1小时, 形成Lysate。
- 1b. 干拭子: 将拭子用剪刀从杆上剪下, 置于离心管中, 加入360  $\mu\text{L}$  Buffer SL, 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育1小时, 形成Lysate。

#### 手动操作步骤

2. 加入200  $\mu\text{L}$  Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀, 置于恒温孵育器70 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育10分钟后取下。  
**注意: 加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。**
3. 加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟, 之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟, 之后弃去溶液(保持离心管固定于磁力架上)。
5. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW1(使用前请检查是否已加入无水乙醇), 涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟, 之后弃去溶液(保持离心管固定于磁力架上)。  
**注意: 如需提高纯度, 可重复步骤5。**
6. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW2(使用前请检查是否已加入无水乙醇), 涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟, 之后弃去溶液(保持离心管固定于磁力架上)。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后, 将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液, 之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
9. 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中, 之后将离心管固定于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟, 之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

#### 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂:

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu\text{L}$
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu\text{L}$

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中, 运行“MicroSample-2程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停, 向1&7 Colume中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠。

5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20℃保存备用。

#### 四、血片或血斑样本

- 1a. 取直径约3 mm的血片样本1-2片，置于离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56℃、1200 rpm孵育45分钟，形成Lysate。
- 1b. 剪取滴落在衣物或棉布上直径约6 mm的血斑样本，置于离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56℃、1200 rpm孵育1小时，形成Lysate。

#### 手动操作步骤

2. 加入200  $\mu\text{L}$  Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70℃、1200 rpm孵育10分钟后取下。  
**注意：加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。**
3. 加入200  $\mu\text{L}$  异丙醇与20  $\mu\text{L}$  磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。  
**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**
6. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
9. 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20℃保存备用。

#### 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu$ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu$ L
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu$ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu$ L
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu$ L

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200  $\mu$ L异丙醇与20  $\mu$ L磁珠。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96 DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}$ C保存备用。

## 五、骨骼或牙齿样本

1. 将骨骼或牙齿用液氮或金属研磨器研磨后取0.01-0.1 g左右置于离心管中，加入260  $\mu$ L Buffer SL，20  $\mu$ L Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}$ C、1200 rpm孵育过夜，形成Lysate。

### 手动操作步骤

2. 加入200  $\mu$ L Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70 $^{\circ}$ C、1200 rpm孵育10分钟后取下。  
**注意：加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。**
3. 加入200  $\mu$ L异丙醇与20  $\mu$ L磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500  $\mu$ L Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。  
**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**
6. 向离心管中加入500  $\mu$ L Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
9. 向离心管中加入50-100  $\mu$ L RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。

10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20℃保存备用。

### 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 μL
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 μL
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 μL
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 μL
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 μL

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200 μL异丙醇与20 μL磁珠。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20℃保存备用。

## 六、组织样本

1. 取1-10 mg组织用液氮研磨后，置于离心管中，加入180 μL Buffer SL，20 μL Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56℃、1200 rpm孵育1小时或56℃水浴过夜，形成Lysate。

### 手动操作步骤

2. 加入200 μL Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70℃、1200 rpm孵育10分钟后取下。

**注意：加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。**

3. 加入200 μL异丙醇与20 μL磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500 μL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**

6. 向离心管中加入500 μL Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 重复步骤6。
8. 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。



9. 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀上震荡洗脱10分钟。
10. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 与CWE2100提取仪匹配

2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu\text{L}$
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu\text{L}$

3. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
4. 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
6. 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 七、烟头或果壳样本

- 1a. 取1-3张1  $\text{cm}^2$ 烟头外层纸剪碎，置于离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育1小时或56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴过夜，形成Lysate。
- 1b. 取1-3片果壳碎片，置于离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育1小时或56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴过夜，形成Lysate。

## 手动操作步骤

2. 加入200  $\mu\text{L}$  Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育10分钟后取下。

**注意：**加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。

3. 加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

**注意：**如需提高纯度，可重复步骤5。

- 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
- 重复步骤6。
- 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
- 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 与CWE2100提取仪匹配

- 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu\text{L}$
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu\text{L}$

- 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
- 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠。
- 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
- 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 八、尿液样本

- 将1-20 mL尿液4000 rpm 离心10 min弃去上清，留取10-200  $\mu\text{L}$ 沉淀置于1.5 mL离心管中，加入180  $\mu\text{L}$  Buffer SL，20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 涡旋震荡混匀。置于恒温孵育器56 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育45分钟，形成Lysate。

#### 手动操作步骤

- 加入200  $\mu\text{L}$  Buffer GL后涡旋震荡使溶液混匀，置于恒温孵育器70 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm孵育10分钟后取下。

**注意：**加入Buffer GL之后有沉淀为正常现象。

- 加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

- 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

**注意：如需提高纯度，可重复步骤5。**

- 向离心管中加入500  $\mu\text{L}$  Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
- 重复步骤6。
- 离心管短暂离心后，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发。
- 向离心管中加入50-100  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
- 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 与CWE2100提取仪匹配

- 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Lysate: All Buffer GL: 200 $\mu\text{L}$
2&8 Colume	Buffer GW1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 Colume	Buffer GW2: 500 $\mu\text{L}$
6&12 Colume	RNase-Free Water: 70 $\mu\text{L}$

- 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中，运行“MicroSample-2程序”。
- 约10分钟后程序运行暂停，向1&7 Colume中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠。
- 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。约35分钟后程序运行结束，将96DW深孔板和磁套从仪器中取出。
- 把6&12 Colume中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

### 附1: MicroSample-1程序

孔位	释放磁珠	名称	等待时间	混合时间	混合速度	循环数	磁吸时间	体系	温度
1	否	混合	0	2 min	快	2	0	620 $\mu$ L	80 $^{\circ}$ C
				3 min	中				
1	暂停								
1	是	混合	0	2 min	快	1	5s/次, 3次	620 $\mu$ L	室温
				3 min	中				
2	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
3	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
4	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
4	否	干燥	5 min	试剂外部					
6	是	洗脱	0	2 min	快	1	5s/次, 2次	70 $\mu$ L	65 $^{\circ}$ C
				3 min	中				
2	是	释放	0	5 s	快	0	0	750 $\mu$ L	室温

### 附2: MicroSample-2程序

孔位	释放磁珠	名称	等待时间	混合时间	混合速度	循环数	磁吸时间	体系	温度
1	否	混合	0	2 min	快	2	0	620 $\mu$ L	70 $^{\circ}$ C
				3 min	中				
1	暂停								
1	是	混合	0	2 min	快	1	5s/次, 3次	620 $\mu$ L	室温
				3 min	中				
2	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
3	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
4	是	混合	0	1 min	快	1	5s/次, 2次	500 $\mu$ L	室温
4	否	干燥	5 min	试剂外部					
6	是	洗脱	0	2 min	快	1	5s/次, 2次	70 $\mu$ L	65 $^{\circ}$ C
				3 min	中				
2	是	释放	0	5 s	快	0	0	750 $\mu$ L	室温