



# 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、四、五、六、七、八：24次/盒；

型号二、三、七、八：96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】

本试剂盒提供了一种从粪便上清液样本中提取DNA，包括样本中的人源细胞和或革兰氏阴性菌DNA的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上，漂洗后，高纯度的DNA被洗脱于洗脱缓冲液或去离子水中。纯化得到的DNA纯度好，得率高，不含蛋白、核酸酶和其他杂质，可用于甲基化转化、PCR、荧光定量PCR等下游实验。

## 【主要组成成分】

型号一：瓶装型

型号二：32通道预装板型

试剂名称	24次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液	32 mL/瓶	1瓶
除杂缓冲液	13 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1（浓缩液）	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	50 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	4 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	280 μL/支	1支
磁珠悬浮液	1 mL/支	2支

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
核糖核酸酶A	500 μL/支	1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
磁套板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	500 $\mu$ L/支	1支

型号四：24通道预装板型I

试剂名称	24次/盒	
	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
磁套板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	280 $\mu$ L/支	1支

型号五：24通道预装板型II

试剂名称	24次/盒	
	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
磁套板	1块	1
除杂缓冲液	13 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	280 $\mu$ L/支	1支

型号六：24通道预装板与纯化型

试剂名称	24次/盒	
	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
磁套板	1块	1
蛋白酶K	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	280 $\mu$ L/支	1支
结合缓冲液 (可选)	15 mL	1
平衡缓冲液 (可选)	6 mL	1
漂洗缓冲液 (浓缩液) (可选)	3 mL	1
洗脱缓冲液 (可选)	1.5 mL	1
含收集管的吸附柱 (可选)	24个/包	1包

型号七：瓶装型小体积柱式法

试剂名称	24次/盒		96次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	750 $\mu$ L/支	1支	3 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1	13 mL/瓶	1瓶	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2 (浓缩液)	6 mL/瓶	1瓶	23 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液3 (浓缩液)	8 mL/瓶	1瓶	32 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	2.5mL/瓶	1瓶	10 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	550 $\mu$ L/支	1支	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	120 $\mu$ L/支	1支	500 $\mu$ L/支	1支
吸附柱	24个/包	1包	96个/包	1包

型号八：瓶装型小体积磁珠法

试剂名称	24次/盒		96次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	750 μL/支	1支	3 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1	13 mL/瓶	1瓶	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2（浓缩液）	6 mL/瓶	1瓶	23 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液3（浓缩液）	8 mL/瓶	1瓶	32 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	2.5mL/瓶	1瓶	10 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	550 μL/支	1支	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	120 μL/支	1支	500 μL/支	1支
磁珠悬浮液	550 μL/支	1支	1 mL/支	2支

### 【储存条件及有效期】

除杂缓冲液2-8℃储存，其它组分4-30℃保存，有效期12个月。

除杂缓冲液低温冰袋运输，其他可在0-40℃运输，运输时间建议不超过7天。

### 【样本要求】

1. 适用样本类型：粪便样本。
2. 样本处理与保存：常温处理，保存液保存。
3. 样本运输：常温运输。

### 【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) 异丙醇，无水乙醇
2. 与全自动核酸提取仪的匹配：
  - 1) 江苏合为智造科技有限公司的HW360全自动核酸提取仪或HW660智能核酸处理一体机、江苏健为诊断科技有限公司的JW965全自动核酸提取仪
  - 2) 异丙醇，无水乙醇

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
- 2) 异丙醇

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
- 2) 异丙醇

#### 型号四、五：24通道预装板型

与全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 江苏合为智造科技有限公司的HW360全自动核酸提取仪或HW660智能核酸处理一体机、江苏健为诊断科技有限公司的JW965全自动核酸提取仪
- 2) 异丙醇

#### 型号六：24通道预装板与纯化型

与全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 江苏合为智造科技有限公司的HW360全自动核酸提取仪或HW660智能核酸处理一体机、江苏健为诊断科技有限公司的JW965全自动核酸提取仪
- 2) 异丙醇，无水乙醇

#### 型号七：瓶装型小体积柱式法

- 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
- 2) 异丙醇，无水乙醇

#### 型号八：瓶装型小体积磁珠法

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. 与全自动核酸提取仪的匹配：
  - 1) 康为CWE2100或CWE3200或CWE960全自动核酸提取仪
  - 2) 异丙醇，无水乙醇

## 【检验方法】

### 型号一：瓶装型

#### 1. 手动单管检测

- 1.1 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。  
**注意：**该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。如需要，请订购粪便样本采集保存管。
- 1.2 取1.35 mL 上清液至2 mL离心管中，加入0.45 mL 除杂缓冲液，颠倒数次然后涡旋10秒，13000rpm离心2分钟。取1.2 mL中间清液备用。  
**注意：**①除杂缓冲液待即将使用前取出，用完立即放在2-8℃储存。  
②吸取清液时避免吸取到固体颗粒与漂浮物。
- 1.3 向5 mL或者15 mL离心管中依次加入1.2 mL 裂解缓冲液、1.2 mL离心后的样本清液、60μL蛋白酶K和10μL核糖核酸酶A溶液。将离心管置于恒温混匀仪上，60℃，1200rpm，孵育20分钟。  
**注意：**①请按照顺序依次加入试剂。  
②如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于60℃水浴锅中孵育20分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
- 1.4 向裂解物中加入1.45 mL异丙醇与50 μL 磁珠悬浮液，使用恒温混匀仪室温涡旋10分钟。  
**注意：**磁珠使用前需涡旋震荡30秒。

- 1.5 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2 mL漂洗缓冲液1（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1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 重复步骤1.6。
- 1.8 将离心管从磁力架上取下，加入2 mL漂洗缓冲液2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡5秒后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1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 重复步骤1.8。
- 1.10 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（肉眼观察磁珠表面变成哑光且磁珠无干裂）。
- 1.11 将离心管从磁力架上取下，加入 50-150  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液。涡旋振荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其转移到2 mL离心管中并放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm 的恒温混匀仪上振荡洗脱10分钟。
- 1.12 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. 与核酸提取仪的匹配

- 2.1 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。  
**注意：**该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。如需要，请订购粪便样本采集保存管。
- 2.2 取1.35 mL 上清液至2 mL离心管中，加入0.45 mL 除杂缓冲液，颠倒数次然后涡旋10秒，13000rpm离心2分钟。取1.2 mL中间清液作为裂解物备用。  
**注意：**①除杂缓冲液待即将使用前取出，用完立即放在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 储存。  
②吸取清液时避免吸取到固体颗粒与漂浮物。
- 2.3 按下表向24深孔板中加入相应试剂（**注意：板1按表中顺序添加试剂**）

位置	试剂及用量
板1	裂解缓冲液: 1.2 mL 裂解物: 1.2 mL 蛋白酶K: 60 $\mu\text{L}$ 核糖核酸酶A: 10 $\mu\text{L}$
板2	漂洗缓冲液1: 2 mL
板3	漂洗缓冲液1: 2 mL
板4	漂洗缓冲液2: 2 mL 磁珠悬浮液: 50 $\mu\text{L}$
板5	漂洗缓冲液2: 2 mL 磁套板
板6	洗脱缓冲液: 90 $\mu\text{L}$

**注意：**①漂洗缓冲液1与漂洗缓冲液2使用前请检查是否已加入无水乙醇。

- 2.4 运行CWY095S程序。待约21分钟程序暂停后，将板1从仪器中取出，向每孔加入1.45 mL异丙醇。
- 2.5 将板1深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套板和深孔板。把板6中的DNA洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 型号二：32通道预装板型

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以5000 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。**

2. 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。
3. 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。
4. 向深孔板的1、7列加入300  $\mu$ L离心后的样本上清液，随后加入20  $\mu$ L 蛋白酶K溶液和4  $\mu$ L 核糖核酸酶A溶液。
5. 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。
6. 运行CWY095SE32程序。
7. 待程序暂停后，将深孔板从仪器中取出，向1、7列加入200  $\mu$ L 异丙醇。
8. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。
9. 将深孔板6、12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中低温保存。

## 型号三：96通道预装板型

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以5000 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。**

2. 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。
3. 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。
4. 向样本板每孔中加入300  $\mu$ L离心后的样本上清液，随后加入20  $\mu$ L 蛋白酶K溶液和4  $\mu$ L核糖核酸酶A溶液。
5. 将磁套板置于样本板中。
6. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	CWE960位置
样本板和磁套板	1
漂洗板1	2
漂洗板2	3
漂洗板3	4
漂洗板4	5
洗脱板	6

7. 运行CWY095SE96程序。待程序暂停后，取出样本板，向样本板每孔中加入200  $\mu$ L异丙醇，之后将样本板于板位1。
8. 程序运行结束后，将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中低温保存。

## 型号四：24通道预装板型

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以5000 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。**

2. 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。

3. 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。
4. 向样本板每孔中加入3 mL离心后的样本上清液，随后加入60  $\mu$ L 蛋白酶K溶液和10  $\mu$ L 核糖核酸酶A溶液。
5. 将磁套板置于漂洗板4中。
6. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	核酸提取仪位置
样本板	1
漂洗板1	2
漂洗板2	3
漂洗板3	4
漂洗板4和磁套板	5
洗脱板	6

7. 运行CWY095SE24程序。待程序暂停后，取出样本板，向样本板每孔中加入2 mL异丙醇，之后将样本板置于板位1。
8. 程序运行结束后，取出磁套板和深孔板。将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中低温保存。

#### 型号五：24通道预装板型II

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：**该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。

2. 取1.35 mL上清液至2 mL离心管中，加入0.45 mL除杂缓冲液，颠倒数次然后涡旋10秒，13000 rpm离心2分钟。取1.2 mL中间清液备用。

**注意：**①除杂缓冲液待即将使用前取出，用立即放在 2-8°C储存。

②吸取清液时避免吸取到固体颗粒与漂浮物。

3. 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。
4. 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。
5. 向样本板每孔中加入1.2 mL离心后的样本上清液，随后加入60  $\mu$ L 蛋白酶K溶液和10  $\mu$ L 核糖核酸酶A溶液。
6. 将磁套板置于漂洗板4中。
7. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	核酸提取仪位置
样本板	1
漂洗板1	2
漂洗板2	3
漂洗板3	4
漂洗板4和磁套板	5
洗脱板	6

8. 运行CWY095S-24程序。待约21分钟程序暂停后，取出样本板，向样本板每孔中加入1.45 mL 异丙醇，之后将样本板置于板位1，继续运行程序。
9. 程序运行结束后，取出磁套板和深孔板。将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中-20°C低温保存。

## 型号六：24通道预装板与纯化型

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以5000 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：**该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。

2. 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。
3. 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。
4. 向样本板每孔中加入3 mL离心后的样本上清液，随后加入60  $\mu$ L 蛋白酶K溶液和10  $\mu$ L 核糖核酸酶A溶液。
5. 将磁套板置于漂洗板4中。
6. 按照下表将预装板放入提取仪相应位置上。

名称	核酸提取仪位置
样本板	1
漂洗板1	2
漂洗板2	3
漂洗板3	4
漂洗板4和磁套板	5
洗脱板	6

7. 运行提取程序。约22分钟后程序暂停，取出样本板，向样本板每孔中加入2 mL异丙醇，之后将样本板置于板位1，继续运行程序。
8. 程序运行结束后，取出磁套板和深孔板。将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中保存。（以下为可选步骤）
9. 将洗脱产物加入500  $\mu$ L结合缓冲液，颠倒5次混匀。
10. 在吸附柱中加入200  $\mu$ L平衡缓冲液，13000 rpm 离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
11. 将步骤9中的溶液加入已装入收集管的吸附柱中，室温放置1分钟，13000 rpm离心30-60秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
12. 向吸附柱中加入500  $\mu$ L漂洗缓冲液（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），13000 rpm离心30-60秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。13000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱开盖置于室温3-5分钟，以彻底晾干。
13. 将吸附柱放到一个新离心管（自备）中，向吸附膜中间位置悬空滴加30-50  $\mu$ L洗脱缓冲液，室温放置1分钟。13000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20度保存DNA。

## 型号七：瓶装型小体积柱式法

1. 充分摇晃混匀含粪便样本的粪便样本采集保存管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm 离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：**该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用。

2. 向2 mL离心管中依次加入25  $\mu$ L 裂解缓冲液、300  $\mu$ L 离心后的样本上清液、20  $\mu$ L 蛋白酶K和4  $\mu$ L 核糖核酸酶A溶液。将离心管置于恒温混匀仪上，60  $^{\circ}$ C，1200 rpm，孵育15分钟。

**注意：**①请按照顺序依次加入试剂。

②如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于60 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育15分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。

③若粪便样本较为粘稠或者采样量过多，建议加入100  $\mu$ L上清液与200  $\mu$ L粪便样本保存液。

④吸取上清液时，避免吸到固体颗粒。

3. 向裂解物中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇，涡旋10秒。
4. 将上述溶液转移到已装入收集管的吸附柱中，12000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心1分钟。倒掉收集管的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液1，12000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入500  $\mu\text{L}$ 漂洗缓冲液3（使用前检查是否已加入无水乙醇），12000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 重复步骤7。
9. 12000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。  
注意：这一步的目的是将吸附柱中残留的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应。
10. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空滴加60-100  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液，室温放置2-5分钟，12000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液， $-20\pm 5^\circ\text{C}$ 保存DNA。  
注意：①离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。  
②用另外的60-100  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液或灭菌水再次洗脱可以增加产量。  
③如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤10，但可能会减少总产量。  
④洗脱缓冲液不含螯合剂，请置于 $-20\pm 5^\circ\text{C}$ 保存DNA。  
⑤基因组DNA模板中残余的微量PCR抑制物可能对PCR反应产生不良影响，可将DNA稀释2-10倍通常即可解决。

## 型号八：瓶装型小体积磁珠法

### 1. 手动单管处理

- 1.1 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。  
注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。
- 1.2 向2 mL离心管中依次加入25  $\mu\text{L}$ 裂解缓冲液、300  $\mu\text{L}$ 离心后的样本上清液、20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K和4  $\mu\text{L}$ 核糖核酸酶A溶液。将离心管置于恒温混匀仪上， $60^\circ\text{C}$ ，1200 rpm，孵育15分钟。  
注意：①请按照顺序依次加入试剂。  
②如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于 $60^\circ\text{C}$ 水浴锅中孵育15分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。  
③若粪便样本较为粘稠或者采样量过多，建议加入100  $\mu\text{L}$ 上清液与200  $\mu\text{L}$ 粪便样本保存液。  
④吸取上清液时，避免吸到固体颗粒。
- 1.3 向裂解物中加入200  $\mu\text{L}$ 异丙醇与20  $\mu\text{L}$ 磁珠悬浮液，使用恒温混匀仪室温涡旋8分钟。  
注意：磁珠使用前需涡旋震荡30秒，可根据样本量将异丙醇与磁珠预混然后加入。
- 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500 μL 漂洗缓冲液1后涡旋5秒钟，然后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1.5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500 μL漂洗缓冲液2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡5秒钟后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀30秒（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500 μL漂洗缓冲液3（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡5秒钟后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀30秒（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 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，开盖室温放置5-10分钟左右，使乙醇挥发干净（肉眼观察磁珠表面变成哑光且磁珠无干裂）。
- 1.10 将离心管从磁力架上取下，加入60 -100 μL 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℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱8分钟。
- 1.11 将离心管放于磁力架上静置1分钟，等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±5℃保存备用。

## 2. 与康为CWE2100或CWE3200全自动核酸提取仪的匹配

- 2.1 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。

- 2.2 按照下表在96DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7 列	裂解缓冲液: 25 μL 样本: 300 μL 蛋白酶K: 20 μL 核糖核酸酶A: 4 μL
2&8 列	漂洗缓冲液1: 500 μL
3&9 列	漂洗缓冲液2: 500 μL
4&10 列	漂洗缓冲液3: 500 μL 磁珠悬浮液: 20 μL
5&11 列	漂洗缓冲液3: 500 μL
6&12 列	洗脱缓冲液: 70 μL

注意：①1&7 列中试剂按照顺序依次加入。

②漂洗缓冲液2、3使用前请检查是否已加入无水乙醇。

③漂洗缓冲液3与磁珠悬浮液可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋10 秒混匀。

- 2.3 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。然后运行提取程序。
- 2.4 待程序暂停后，将深孔板从仪器中取出，向1、7列加入200 μL 异丙醇。
- 2.5 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。
- 2.6 将深孔板6、12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中-20±5℃保存。

### 3. 与康为CWE960全自动核酸提取仪的匹配

3.1 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。

3.2 按照下表在96DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
板1	裂解缓冲液: 25 $\mu$ L 样本: 300 $\mu$ L 蛋白酶K: 20 $\mu$ L 核糖核酸酶A: 4 $\mu$ L
板2	漂洗缓冲液1: 500 $\mu$ L
板3	漂洗缓冲液2: 500 $\mu$ L
板4	漂洗缓冲液3: 500 $\mu$ L 磁珠悬浮液: 20 $\mu$ L
板5	漂洗缓冲液3: 500 $\mu$ L
板6	洗脱缓冲液: 70 $\mu$ L

注意：①板1中试剂按照顺序依次加入。

②漂洗缓冲液2、3使用前请检查是否已加入无水乙醇。

③漂洗缓冲液3与磁珠悬浮液可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋10秒混匀。

3.3 将加入样本的深孔板放入仪器中，之后磁棒套置于板1中。然后运行提取程序。

3.4 待程序暂停后，取出板1，向样本板每孔中加入200  $\mu$ L异丙醇。

3.5 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。

3.6 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】

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明预先在漂洗缓冲液1（浓缩液）和漂洗缓冲液2（浓缩液）中加入无水乙醇。
3. 预装板与磁珠悬浮液严禁冰冻、高速离心。冰冻、高速离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
4. 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。