



# CWE2100 Magbead Blood DNA Mini Kit (0.3-1.0 mL)

## CWE2100 磁珠法血液DNA小量提取试剂盒 (0.3-1.0 mL)

**目录号：** CW2517S (96 preps)

**保存条件：** Buffer FG1: 2-8℃ 其它组分：室温 (15-30℃)

### 产品内容

Component	CW2517S
	96 preps
96 DW Plate	6 Plates
8 Channel Comb	12 Strips
Buffer FG1	260 mL
Buffer WL	24 mL
Buffer ML	24 mL
Buffer GW1 (concentrate)	2×40 mL
Buffer GW2 (concentrate)	26 mL
Buffer MW3	80 mL
Buffer EB	30 mL
Proteinase K	2×25 mg
Proteinase K Storage Buffer	2×1.25 mL
Magbeads PN	2×1 mL

## 产品简介

该产品提供了一种简单、快速、高效的血液DNA提取方法，适用于从0.3-1.0 mL的抗凝血中提取DNA。在高盐存在时，DNA结合与硅基包被的磁珠表面。漂洗后，高纯度的DNA被洗脱于Buffer EB或去离子水中。DNA的得率与样品的类型，储存条件、时间以及样品中白细胞的含量有很大关系，从1 mL血液中通常可以提取得到10-50 ug DNA。纯化得到的DNA纯度好（ $A_{260/280}$ 在1.7-1.9之间， $A_{260/230}$ 大于2.0），完整度高，可用于二代测序、芯片检测和定量PCR等下游实验。

该试剂盒可与液体工作站和磁棒法磁珠自动提取系统匹配使用，简单、快速地进行大规模的提取，大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

## 自备仪器、试剂

### 1. 手动单管操作：

- 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. 自动提取系统：

- 1) 康为全自动核酸提取仪CWE2100
- 2) 恒温混匀仪——货号：CW2593
- 3) 异丙醇（北京化工厂）、无水乙醇

## 实验前准备及重要注意事项

1. 向25 mg Proteinase K中加入1.25 mL Proteinase K Storage Buffer使其溶解，之后-20℃保存。配置好的Proteinase K溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. Magbeads严禁冰冻、高速离心。冰冻和高速离心可能会对Magbeads造成不可逆的损害。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇并做好标记。
4. 样品应避免反复冻融或长时间室温放置，否则会导致DNA片段较小且提取得率低。
5. 如Buffer ML中出现沉淀，请在56℃水浴锅中重新溶解，摇匀后即可使用。
6. 实验过程中，磁珠在溶液中的充分混匀对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。

## 操作步骤（手动单管操作）

1. 向2.0 ml的离心管中加入0.3-1 mL血液和1.0 mL的Buffer FG1，颠倒混匀10次后室温静置10分钟。
2. 将离心管放入离心机中16,000×g离心1分钟，之后去除上清液，保留白细胞沉淀。
3. 向离心管中加入1.0 mL Buffer FG1，涡旋震荡至沉淀块消失后将离心管放入离心机中16,000×g离心1分钟。
4. 将离心管从离心机中取出，去除溶液后将离心管倒扣于干净的吸水纸上静置1分钟。期间避免沉淀块从管底脱落。
5. 向离心管中加入20μL Proteinase K和200μL Buffer WL，涡旋震荡10秒钟后将离心管放于56℃、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解20分钟或放于56℃水浴锅中孵育20分钟直至沉淀块消失（孵育期间，每个5分钟涡旋震荡10秒钟）。
6. 将离心管从水浴锅中取出，加入200μL Buffer ML后涡旋混匀10秒钟。之后室温静置5分钟。
7. 向离心管中加入320μL充分混匀的异丙醇（300μL）与Magbeads（20μL）混合物，涡旋震荡5秒钟后立即放于25℃、1600 rpm的恒温混合仪上震荡混匀2分钟或连续颠倒混匀5分钟。
8. 将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads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）。
9. 将离心管从磁力架上取下，加入750μL Buffer GW1（加入前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋点震5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混合仪上震荡混匀2分钟。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads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充分弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
10. 将离心管从磁力架上取下，加入750μL Buffer GW2（加入前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋点震5秒钟后放于25℃、1600 rpm的恒温混合仪上震荡混匀2分钟。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads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充分弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
11. 选择步骤：
  - 1) 保持离心管固定于磁力架上，用移液器取出离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5-10分钟使乙醇充分挥发干净。如离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入750μL无水乙醇。盖盖后颠倒离心管，之后充分弃去溶液。
  - 2) 保持离心管固定于磁力架上，向离心管中加入750μL Buffer MW3，待悬起的磁珠重新吸附于离心管侧壁后立即充分弃去溶液。

- 将离心管从磁力架上取下，加入100-200 $\mu$ L Buffer EB。涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混合仪上震荡洗脱10分钟，或将离心管在56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育10分钟，期间每隔3分钟涡旋震荡10秒钟。
- 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待Magbeads充分吸附于离心管侧壁后用移液器将溶液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}$ C保存备用。

## 操作步骤 (CW2517与CWE2100匹配)

- 向2.0 mL的离心管中加入0.3-1 mL血液和1.0 mL的Buffer FG1，颠倒混匀10次后室温静置10分钟。
- 将离心管放入离心机中16,000 $\times$ g离心1分钟，之后去除上清液，保留白细胞沉淀。
- 向离心管中加入1.0 mL Buffer FG1，涡旋震荡至沉淀块消失后将离心管放入离心机中16,000 $\times$ g离心1分钟。
- 将离心管从离心机中取出，去除溶液后将离心管倒扣于干净的吸水纸上静置1分钟。期间避免沉淀块从管底脱落。
- 向离心管中加入20 $\mu$ L Proteinase K和200 $\mu$ L Buffer WL，涡旋震荡10秒钟后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、16000 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解20分钟或放于56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育20分钟直至沉淀块消失（孵育期间，每个5分钟涡旋震荡10秒钟）。
- 将离心管从水浴锅中取出，加入200 $\mu$ L Buffer ML后涡旋混匀10秒钟。之后室温静置5分钟，形成Lysate。
- 按下表向96 DW深孔板中加入相应试剂。

Position	Reagent
1&7 Colume	Lysate all Isopropanol :300 $\mu$ L Magbeads PN: 20 $\mu$ L
2&8 Colume	BufferGW1:750 $\mu$ L
3&9 Colume	BufferGW1:750 $\mu$ L
4&10 Colume	BufferGW2750 $\mu$ L
5&11 Colume	BufferMW3:750 $\mu$ L
6&12 Colume	BufferEB:100 $\mu$ L

- 将加入试剂的96 DW深孔板放入仪器中，之后将磁棒套固定在磁棒套架上。
- 运行CW2517-Cowin Blood 200程序，约23分钟后程序运行结束，取出磁套和深孔板。  
**注意：建议先取出深孔板，再取出磁棒套。**
- 将深孔板6&12列中的洗脱产物转移至1.5mL离心管中低温保存。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途