



Magbead Genomic DNA Kit

磁珠法基因组DNA提取纯化试剂盒

目录号：CW3059S

保存条件：室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW3059S 96 preps
Buffer ML	36 mL
Buffer WL	36 mL
Buffer KL	50 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EB	30 mL
Proteinase K	2×1.25 mL
Magbeads	2×1 mL

产品简介

该试剂盒适用于从血液、血片和口腔拭子等样本中提取基因组DNA。在高盐存在时，DNA结合于硅基包被的Magbeads表面。漂洗后，高纯度的DNA被洗脱于Buffer EB或去离子水中。纯化得到的DNA纯度好，完整度高，可用于二代测序、定量PCR、芯片检测等下游实验。

该试剂盒可与CWE2100 32通道核酸提取仪和CWE9600 96通道核酸提取仪等仪器进行匹配使用，简单、快速地进行高通量提取，大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

自备仪器试剂盒耗材

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. 配CWE2100或CWE3200使用：
 - 1) 32通道核酸提取仪——货号：CWE2100或CWE3200
 - 2) 96 DW Plate——货号：CW2523
 - 3) 8 channel Comb——货号：CW2524
 - 4) 异丙醇、无水乙醇
3. 配CWE9600使用：
 - 1) 96通道核酸提取仪——货号：CWE9600
 - 2) 96 DW Plate——货号：CW2523
 - 3) Spin tips pack——货号：CW2532
 - 4) 异丙醇、无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前按照试剂瓶标签向Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇并做好标记。
2. Magbeads严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对Magbeads造成不可逆的损害。使用前需充分混匀。

操作步骤

一、血液/血片/口腔拭子的手提方案

血液样品

1. 向1.5 mL的离心管中加入20 μ L Proteinase K，之后加入200 μ L的血液。
注意：1) 冷冻抗凝血液需提前在室温（15-30 $^{\circ}$ C）下放置，融化混匀。
2) 如血液体积大于或小于200 μ L，Proteinase K、Buffer ML和异丙醇与磁珠混合物的用量需按比例调整。
2. 向离心管中加入200 μ L Buffer ML，涡旋振荡5秒钟使其充分混匀后，将离心管放于56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育15分钟，期间涡旋震荡混匀2次。

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300 μL 异丙醇和20 μL 充分混匀的Magbeads（如果样品数量较多，可将Magbeads和异丙醇按比例混合并涡旋振荡20秒使其成为均一溶液，每管加入320 μL 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。
4. 按后续实验步骤进行操作。

血片样本

1. 用打孔钳从血斑中取1片直径为6 mm的血斑或4片直径为3 mm的血斑（根据实际情况）放入2.0 mL的离心管中。
2. 向离心管中加入20 μL Proteinase K和300 μL Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30-60分钟，形成Lysate，将离心管从恒温混合仪上取下，短暂离心，取上清。
注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育30-60分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
3. 将上清液吸至新的离心管，加入450 μL Buffer KL和20 μL 充分混匀的Magbeads。之后将离心管放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟或将离心管连续颠倒混匀15分钟。
4. 按后续实验步骤进行操作。

口腔拭子样本

干燥保存的口腔拭子：

1. 将口腔拭子的棉签用剪刀从杆上剪下，置于2.0 ml的离心管中。
2. 向离心管中加入20 μL Proteinase K和300 μL Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30分钟。注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育30分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
3. 将离心管从恒温混合仪上取下，短暂离心后加入300 μL Buffer ML。之后将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟。
注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
4. 将步骤3中的离心管短暂离心后室温放置5分钟，之后将裂解产物转移至1.5 mL的离心管中。向离心管中加入200 μL 异丙醇和10 μL 充分混匀的Magbeads，涡旋震荡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。
5. 按后续实验步骤进行操作。

保护液中保存的口腔拭子：

1. 向1.5 mL离心管中加入20 μL Proteinase K、300 μL 保存该拭子的保护液和200 μL Buffer ML，置于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混合仪上震荡裂解30分钟。注意：如无恒温混合仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育30分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
2. 将离心管从恒温混合仪上取下，室温放置5分钟。
3. 向离心管中加入300 μL 异丙醇和10 μL 充分混匀的Magbeads，涡旋震荡5秒钟后将离心管放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混合仪上震荡混匀5分钟或将离心管连续颠倒混匀10分钟。
4. 按后续实验步骤进行操作。

后续实验步骤

1. 将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后充分弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
2. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μL Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇）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Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads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）。
3. 重复步骤2。
4. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μL Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇）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Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads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）。
5. 重复步骤4。
6. 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 μL 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。
7. 将离心管从磁力架上取下，加入50-100 μL Buffer EB。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。
8. 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待Magbeads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。

二、血液/血片/口腔拭子在CWE2100或CWE3200上使用

血液样品

- 按下表将样品与试剂加入96 DW深孔板的相应孔中

Position	Reagent
1&7 Colume	Proteinase K: 20 μ Blood: 200 μ L Buffer ML: 200 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EB: 60 μ L

- 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE2100或CWE3200仪器中，运行CW3059-blood程序。
- 约20分钟后仪器暂停，取出深孔板，在1和7列加入300 μ L异丙醇和20 μ L充分混匀的Magbeads（如果样品数量较多，可将Magbeads PN和异丙醇按比例混合并涡旋振荡20秒使其成为均一溶液，每孔加入320 μ L混合物）。
- 将深孔板放回仪器，继续运行程序至程序完成。
- 将6和12列中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

血片样本

- 用打孔钳从血斑中取1片直径为6 mm的血斑或4片直径为3 mm的血斑（根据实际情况）放入2.0 ml的离心管中。
- 向离心管中加入20 μ L Proteinase K和300 μ L Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1200 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30分钟，形成Lysate。
- 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂：

Position	Reagent
1&7 Colume	Lysate: All Buffer KL: 450 μ L Magbeads: 20 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EB: 60 μ L

- 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE2100或CWE3200仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
- 将6和12列中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

口腔拭子样本

干燥保存的口腔拭子:

1. 将口腔拭子的棉签用剪刀从杆上剪下，置于2.0 mL的离心管中。
2. 向离心管中加入20 μ L Proteinase K和300 μ L Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30分钟。注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育30分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
3. 将离心管从恒温混合仪上取下，短暂离心后加入300 μ L Buffer ML。之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟。形成Lysate。
4. 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂:

Position	Reagent
1&7 Colume	Lysate: All Isopropanol: 200 μ L Magbeads: 10 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EB: 60 μ L

5. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE2100或CWE3200仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
6. 将6和12列中的溶液转移至1.5ml离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

保护液中保存的口腔拭子:

1. 向离心管中加入20 μ L Proteinase K、300 μ L保存该拭子的保护液和200 μ L Buffer ML，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混合仪上震荡裂解30分钟。形成Lysate。
2. 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂:

Position	Reagent
1&7 Colume	Lysate: All Isopropanol: 300 μ L Magbeads: 10 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EB: 60 μ L

3. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE2100或CWE3200仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
4. 将6和12列中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

三、血液/血片/口腔拭子在CWE9600上使用

血液样品

1. 按下表将样品与试剂分别加入96 DW深孔板中

Position	Reagent
Plate 1	Proteinase K: 20 μ L Blood: 200 μ L Buffer ML: 200 μ L
Plate 2	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 3	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 5	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 6	Buffer EB: 60 μ L

2. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE9600仪器中，运行CW3059-blood程序。
3. 约20分钟后仪器暂停，取出Plate 1，在Plate 1加入300 μ L异丙醇和20 μ L充分混匀的Magbeads（如果样品数量较多，可将Magbeads PN和异丙醇按比例混合并涡旋振荡20秒使其成为均一溶液，每孔加入320 μ L混合物）。
4. 将Plate 1放回仪器，继续运行程序至程序完成。
5. 将Plate 6中的溶液转移至1.5ml离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

血片样本

1. 用打孔钳从血斑中取1片直径为6 mm的血斑或4片直径为3 mm的血斑（根据实际情况）放入2.0 ml的离心管中。
2. 向离心管中加入20 μ L Proteinase K和300 μ L Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1200 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30分钟，形成Lysate。
3. 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂：

Position	Reagent
Plate 1	Lysate: All Buffer KL: 450 μ L Magbeads: 20 μ L
Plate 2	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 3	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 5	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 6	Buffer EB: 60 μ L

4. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE9600仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
5. 将Plate 6中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

口腔拭子样本

干燥保存的口腔拭子：

1. 将口腔拭子的棉签用剪刀从杆上剪下，置于2.0 mL的离心管中。
2. 向离心管中加入20 μ L Proteinase K和300 μ L Buffer WL，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解30分钟。注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于56 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育30分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。
3. 将离心管从恒温混合仪上取下，短暂离心后加入300 μ L Buffer ML。之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟。形成Lysate。
4. 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂：

Position	Reagent
Plate 1	Lysate: All Isopropanol: 200 μ L Magbeads: 10 μ L
Plate 2	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 3	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 5	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 6	Buffer EB: 60 μ L

5. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE9600仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
6. 将Plate 6中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。

保护液中保存的口腔拭子：

1. 向离心管中加入20 μ L Proteinase K、300 μ L保存该拭子的保护液和200 μ L Buffer ML，之后将离心管放于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混合仪上震荡裂解30分钟。形成Lysate。
2. 按下表向96DW深孔板中加入相应试剂

Position	Reagent
Plate 1	Lysate: All Isopropanol: 300 μ L Magbeads: 10 μ L
Plate 2	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 3	Buffer GW1: 750 μ L
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 5	Buffer GW2: 750 μ L
Plate 6	Buffer EB: 60 μ L

3. 将加入样本和试剂的深孔板与磁棒套放入CWE9600仪器中，运行CW3059程序至程序完成。
4. 将Plate 6中的溶液转移至1.5mL离心管中，-20 $^{\circ}$ C保存备用。