

干燥体液总核酸提取试剂盒（过柱法/磁珠法）

一、产品简介

干燥体液总核酸提取试剂是为从干燥的体液中提取总核酸而设计的，适合处理的样品包括干燥或者附着于各种介质的干血点、香烟过滤嘴、滤纸或者纸巾上干燥的唾液和体液、口咽鼻拭子等。

优化的裂解液 Buffer TNL2 配合 Proteinase K 能促使核酸从各种介质中游离释放到溶液中，从而提高总核酸的产量。

后续提取过程可采用硅胶膜吸附过柱法或者磁珠法。磁珠法试剂预分装于 96 孔板，配套使用 16/32/48 通道核酸纯化仪，洗脱体积为 100 μ l，洗脱液为去离子水，仪器运行时间约 15 分钟。

有效提取 ≥ 150 nt RNA，包括 mRNA、rRNA、病毒 RNA 和降解的小片段 RNA，可直接逆转录。

有效提取 ≥ 100 bp DNA，包括基因组 DNA、线粒体和病毒 DNA 和降解的小片段 DNA，可直接应用于酶切、PCR、基因芯片、NGS 等后续实验。

相关产品推荐：

MN105-微量样品总核酸提取试剂盒（过柱法/磁珠法）适合处理 1-25 mg 动物组织、鼠尾、毛囊、指甲、皮屑等， $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^7$ 动物细胞。

MN211-FFPE RNA/DNA 提取试剂盒（过柱法/磁珠法）适合从石蜡包埋组织/切片中分别提取 RNA 和 DNA。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	MN102-S1 (50 次)	MN102-M3 (48 次)	原理与用途
产品描述	过柱法	磁珠法	
Proteinase K*	0.5 ml	0.5	降解蛋白
Buffer TNL2	25 ml	20 ml	分散组织释放 RNA、DNA
Buffer TNB2	20 ml	--	调整 RNA、DNA 结合条件
Buffer WAN	25 ml	--	洗涤去除蛋白
Buffer WB2 [§]	16 ml	--	洗涤去除盐
核酸吸附柱-C4	50 个	--	吸附 RNA 或者 DNA
收集管	2×50 个	--	接收废液
1.5 ml 离心管(用于洗脱)	50 个	--	接收洗脱的 RNA 或者 DNA
TE*	15 ml	--	洗脱 RNA 或者 DNA
MN102 预分装 96 孔板-28	--	3 块	配套使用 16/32/48 通道核酸纯化仪
磁棒套	--	3×2	加样孔位为 2 和 8

*Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存。可能会析出白色粉末状、絮状或者晶体状不溶物，不影响使用效果，使用前混合均匀。

§Buffer WB2: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇，混合均匀。

*TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0(25°C)。

所有组成成分于室温储存。

三、实验准备

1. 56℃水浴、金属浴或者温箱，推荐使用恒温震荡仪。
2. 如需去除 RNA，需准备 RNase A1(50mg/ml)。
3. 第一次使用前，按试剂瓶所示体积在 Buffer WB2 中加入无水乙醇，混合均匀。

四、操作步骤

1. 裁剪 100-400 mm² 包含血液、唾液、痰液或精液等体液的滤纸/纸巾/衣物等介质，置于 2 ml 离心管（自备）；

裁剪香烟过滤嘴（近嘴端 2-6 mm），置于 2 ml 离心管（自备）。

2. 加入 **400 μl Buffer TNL2** 和 **10 μl Proteinase K**，56℃温育 60 min，间断混合，延长温育时间不影响效果，可温育过夜。

△ 过量的介质可能会浸润大量溶液，可根据实际情况增加 Buffer TNL2 的体积，以保证步骤 3 能吸取 300 μl 溶液，无需增加 Proteinase K。

3. 磁珠法：简短离心，吸取 **300 μl 溶液** 转入 96 孔板的加样位 2 或者 8，按（五）磁珠法仪器运行参数继续操作。

过柱法：简短离心，吸取 **300 μl 溶液** 转入干净的 1.5ml 离心管中，加入 **400 μl Buffer TNB2**，翻转离心管 5 次或移液器吹打 3 次；

如需去除 RNA，在此步骤加入 5 μl RNase A1(50mg/ml)，溶液混合后室温放置 5 min；

将混合液转入核酸吸附柱-C4(置于收集管中)；离心 1 min，将核酸吸附柱-C4 转入另一个干净的收集管中。

4. 加入 **500 μl Buffer WAN**，离心 1 min，弃废液，将核酸吸附柱-C4 放回收集管中。

5. 加入 **500 μl Buffer WB2**，离心 1 min，弃废液，将核酸吸附柱-C4 放回收集管中。

6. 重复步骤 5。

7. 离心 2 min。

8. 将核酸吸附柱-C4 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，在硅胶膜中央加≥25 μl TE 或去离子水(pH≥7.0)，离心 1 min。

五、磁珠法仪器运行参数

1. 将预分装试剂的 96 孔板 1000-2000 rpm 离心 2 min，撕去热封膜待用。

2. 在核酸纯化仪上插入磁棒套。

MN102 预分装 96 孔板-28 加样孔位为 2 和 8，仪器运行过程无需加热步骤，运行时间约 15 min。

如需去除 RNA，在孔位 2 和 8 加入 5 μl RNase A1(50mg/ml)，加入样品后吹打 3 次混合均匀，室温放置 5 min。

步骤	孔位	混合时间 (min)	混合速度	温度 (℃)	吸磁时间 (sec)	设定体积 (μl)	试剂分装
1	吸磁	1	0	--	20	250	磁珠 250 μl
2	吸附	2	5	快	20	450	Buffer TNB2 400 μl
3	漂洗 1	3	1	快	20	500	Buffer WAN 700 μl
4	漂洗 2	4	1	快	20	550	Buffer WB2 750 μl
5	漂洗 3	5	1	快	20	600	Buffer WB2 800 μl
6	挥发乙醇	5	0	--	吸磁后等待 3 min	--	
7	洗脱	6	1	快	20	100	去离子水 100 μl
8	弃磁	1	1	快	0	250	