

微量样品总核酸提取试剂盒（过柱法/磁珠法）

一、产品简介

微量样品总核酸提取试剂是为从微量动物组织和细胞中提取总核酸而设计的，适合处理的样品包括 1-25 mg 动物组织、鼠尾、毛囊、指甲、皮屑等，可离心收集的 $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^6$ 动物细胞。

优化的裂解液 Buffer TNL5 配合 Proteinase K 能快速分散组织、释放核酸，从而减少裂解过程造成的核酸降解和水解。

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：

MN102-干燥体液总核酸提取试剂盒（过柱法/磁珠法）适合处理滤纸、纸巾或样品采集卡上的干血点和唾液、香烟过滤嘴等；

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	MN105-S1 (50 次)	MN105-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 TNL5	10 ml	10 ml	分散组织释放 RNA、DNA
Buffer TNB	15 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
MN105 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. 样品收集

- a. 称取 1-25 mg 动物组织、鼠尾、毛囊、指甲、皮屑等样品，尽可能切碎或剪碎样品，放入干净 1.5ml 离心管（自备）。
- b. 6,000-12,000g 离心 1 min，收集 $\leq 5 \times 10^6$ 细胞，弃尽上清。

2. 加入 150 μ l Buffer TNL5 和 10 μ l Proteinase K，vortex 震荡 5-10 秒或者用力摇晃 10 次混合均匀。

56℃温育，间断混合，直至组织块完全被消化。延长温育时间不影响效果，可温浴过夜，推荐使用恒温震荡仪。

温浴时间因组织类型和大小而异，例如切碎的肌肉组织约 30 min 即可消化完全，鼠尾 1-2 小时可消化完全。

△ 为方便操作，可事先将 Buffer TNL5、Proteinase K 按照比例预混，混合液需 1 小时内使用完。

3. 磁珠法：简短离心，吸取 150 μ l 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：加入 300 μ l Buffer TNB，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 μ l 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 μ l 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 μ l 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 μ l 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。

MN211 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 μ l 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 ($^{\circ}$ C)	吸磁时间 (sec)	设定体积 (μ l)	试剂分装	
1	吸磁	1	0	--	--	20	250	磁珠 250 μ l
2	吸附	2	5	快	--	20	450	Buffer TNB 300 μ l
3	漂洗 1	3	1	快	--	20	500	Buffer WAN 500 μ l
4	漂洗 2	4	1	快	--	20	550	Buffer WB2 550 μ l
5	漂洗 3	5	1	快	--	20	600	Buffer WB2 600 μ l
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 μ l
8	弃磁	1	1	快	--	0	250	