

石蜡包埋组织基因组提取试剂盒

货号: AC11014

规格: 50T/ 100T

保存: 室温(15°C-25°C) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2°C-8°C保存时间更长。RNase A 和蛋白酶 K-20 度保存。

试剂盒内容:	50T	100T
RNase A	1ml	1ml×2
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
脱蜡液	100ml×2	100ml×4
溶液 A	10ml	20ml
溶液 B	10ml	20ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	10ml	20ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

产品简介:

本试剂盒采用特殊的脱蜡液和裂解条件释提取石蜡包埋组织切片中的 DNA, 克服了福尔马林交联造成的抑制效应。该试剂盒通过特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统, 将高品质的 DNA 纯化至小洗脱体积中。提取的基因组完整性好, 纯度高, 质量稳定可靠。

操作步骤:

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1、样本处理

- 石蜡切片: 取石蜡切片 (5-10 μm 厚, 1×1 cm^2 大小) 5-8 张。
- 石蜡块: 手术刀刮取约 30 mg 的组织样本 (尽量去除多余的石蜡)。注意: 如果样品表面暴露于空气中, 最初刮取的 2-3 片弃掉不用。
- 福尔马林等固定液中的样本: 取 30 mg 样本, 用手术刀切为数块, 置于 1.5 ml 离心管中, 加入 500 μl PBS (0.01M, pH7.4) 涡旋振荡混匀, 12,000 rpm 室温离心 1 min, 弃上清, 重复 3 次, 然后从步骤 7 开

始操作。

2. 脱蜡（二选一）

a. 脱蜡液脱蜡

加入 1 mL 脱蜡液，充分振荡，65°C 水浴 30 min，再次充分振荡，4°C 下 15000 rpm 离心 1.5 min，弃上清再加 1 mL 脱蜡液，重复 3 遍。然后从步骤 7 开始操作。

b. 二甲苯脱蜡

将石蜡切片或石蜡块样本装于 1.5 ml 无菌离心管中，加入 1 ml 二甲苯，剧烈涡旋 10-15s。然后从步骤 3 开始操作（二甲苯需要客户自备）。

3、12000 rpm 室温离心 2 min，弃上清。注意：不要倒掉沉淀。

4、在上述管中加入 1 ml 无水乙醇，涡旋混匀 10s。

5、12,000 rpm (~13,400×g) 室温离心 2 min，弃上清。注意：不要倒掉沉淀。

6、室温放置 5-10 min，充分挥发乙醇。

7、向沉淀中加入 200 μl 缓冲液 A 和 20 μl 蛋白酶 K，充分混匀，56°C 水浴消化 1 h-3h 直至样本完全裂解。消化期间可颠倒离心管混匀数次，直至样品消化完全为止。消化完全的指标是：液体清亮及粘稠。

8、加入 200ul 体积溶液 B，充分颠倒混匀，如出现白色沉淀，可放置于 75°C 15-30min，沉淀即会消失，不影响后续实验。如溶液未变清亮，说明样品消化不彻底，可能导致提取的 DNA 量少及不纯，还有可能导致堵塞吸附柱。

9、加入 200ul 无水乙醇，充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中。

10、12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

11、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

12、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

13、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50°C 温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

14、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200ul 经 65°C 水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 2min。

15、可将离心所得洗脱液再加入吸附柱中，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项:

1、试剂盒拆封后，RNase A 和蛋白酶 K 需放置 -20°C 保存。

2、样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。

3、如果试剂盒中的溶液出现沉淀，可在 65°C 水浴中重新溶解后再使用，不影响效果。

4、洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul，体积过小会影响回收效率：洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。

5、本产品所提 DNA 的完整性依赖于样本类型、储存时间以及固定条件。如果甲醛固定时间过长（超过 24h）或样本存放时间过久（>1 年）则易导致 DNA 完整性受损，无法扩出长片段。