

石蜡包埋组织 DNA 提取

微量说明书

货号	ZD-TG-42-50
组分	
微量离心柱	50 个/包×1
1.5ml 离心管	50 个/包×1
溶液 UL	30ml/瓶×1
溶液 W2	6ml/瓶×1
溶液 TC	12ml/瓶×1
溶液 TE	6ml/瓶×1
Proteinase K	2mg/管×1
RNase A	2mg/管×1
说明书	1 份

■ 产品介绍

样本无需二甲苯脱蜡，方便用户。在缓冲液作用下，DNA 从样本中快速释放，吸附于高性能固相基质，洗脱后即可获得高纯度 DNA。

■ 存储和稳定性

Proteinase K（固体）和 RNaseA（固体）置于 2~8℃ 长期保存。其余组分室温避光保存。保质期：12 个月。

■ 使用前准备

- 阅读说明书，熟悉操作步骤。

自备试剂耗材：无水乙醇、纯水、1.5ml 离心管。

处理福尔马林固定组织时需自备 PBS(10mM, pH7.4)。

盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的洗脱液。

- 每次使用前检查溶液UL。低温时UL会析出沉淀，需在 50℃ 水浴中完全溶解沉淀，摇匀后使用。
- 注意！溶液TC极易挥发，每次使用后立即拧紧瓶盖，避免因液体减少影响使用。
- 首次使用前，向溶液W2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用 每管Proteinase K和RNase A首次使用前分别用 275µl 纯水完全溶解。如酶溶解后未立即用完，应分别按每次用量分装成小份后-20℃ 保存备用，避免反复冻融造成酶活力下降。

- 离心均室温进行。

■ 注意事项

- 试剂如不慎溅到皮肤或粘膜时，立即用大量清水冲洗。
- 离心柱、离心管为一次性产品。

■ 提取步骤

1. 样本处理

石蜡切片：取石蜡切片（5~10 μ m厚，1 \times 1cm²大小）2~4张于1.5ml离心管中。至步骤“2”。

石蜡包埋组织块：取刀片刮取或切成薄片的组织样本2~4mg于1.5ml离心管中，至步骤“2”。

福尔马林等固定液中样本：取样本2~4mg，切为数块，置于1.5ml离心管中。向管中加入500 μ l PBS (10mM, pH7.4)，涡旋混匀15sec，12000 \times g离心1min，弃上液。用PBS缓冲液按上法重复清洗3次后，至步骤2。

注：处理石蜡包埋组织块时应尽量剔除石蜡，石蜡不会影响消化但会增加消化体积。尽量不要使用蜡块表面长期暴露于空气中的组织。

2. 向样本中加入溶液 UL 300 μ l（样本应完全浸没于溶液 UL 中，必要时可短暂离心），80 $^{\circ}$ C 孵育 60min，期间每 15min 混匀一次。

3. 取出离心管后将其冷却至 56 $^{\circ}$ C 以下（室温放置 5min 即可），加入 5 μ l Proteinase K 及 RNaseA 5 μ l，充分混匀。56 $^{\circ}$ C 温育至组织块完全消化（耗时约 15~60min，期间每 5~10min 混匀一次，用自动混摇仪消化效果佳）。

4. 加入 150 μ l 溶液 TC，涡旋混匀 15sec，最高转速（12000 \times g 以上）离心 5min。用移液器小心将上层清液移入新离心管中，移入过程中测算清液体积。加入清液 1.1 倍体积的无水乙醇，充分混匀。

注：取上层清液时注意不要吸入清液下的杂质，这会影响后续试验。

5. 将混匀液全部移入套有收集管的微量离心柱中，8000 \times g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。

注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。

6. 向离心柱中加入 200 μ l 溶液 W2，8000 \times g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

7. 重复步骤“6”一次。

8. 12000 \times g 离心 2min。

9. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管中（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）。向柱中央加入 5~20 μ l 溶液 TE，室温放置 2~3min，12000 \times g 离心 1min。DNA 溶液即收集在离心管中。

注意！核酸溶液用于后续分析前，12000 \times g 离心 1min，小心吸取液体上清使用，不可振摇或吸打混匀液体，这会吸入底部沉淀的从柱子上掉落的颗粒，造成检验结果异常。

注 1)：为提高得率，可向离心柱中央再加入 5~20 μ l 溶液 TE，室温放置后离心收集 DNA 溶液，注意这会增大溶液体积并降低浓度。也可将离心收集的溶液重新加回原离心柱膜中央后室温放置 2min，12000 \times g 离心 1min 收集液体，这可提升核酸浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

注 2)：可自备纯水做替代溶液 TE，纯水 pH 值不低于 7，且 DNA 产物应于 -20 $^{\circ}$ C 保存以防降解。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133