石蜡组织基因组DNA 快速提取试剂盒

Rapid FFPE DNA Kit

产品信息：

试剂盒组成	保存	DL130-01（50 次）
裂解液TL	室温	11ml
结合液CB	室温	11ml
抑制物去除液 IR	室温	25ml
漂洗液WB	室温	15ml 第一次使用前加入 60ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
蛋白酶K（20mg/ml）	室温	1ml
吸附柱AC	室温	50 个
收集管（2ml）	室温	50 个

保存条件：本试剂盒在室温储存 18个月不影响使用效果。

产品介绍：

本试剂盒采用二甲苯脱蜡方法。独特的裂解液/蛋白酶K 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜， 再通过一系列快速的漂洗一离心的步骤， 抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯 净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点：

1. 重复性好:离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 多次柱漂洗确保高纯度，OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7～1.9，可直接用于PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

注意事项：

1. 结合液CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃水浴几分钟帮助重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
3. 结合液CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾**

染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

4. 洗脱液EB不含有螯合剂EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保批pH大于7.5，pH过低影响洗脱效率。用水洗脱DNA应该保存在-20℃。DNA如果需要长期保存，可以用TE缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是EDTA可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

自备试剂：二甲苯，无水乙醇。

操作步骤：

提示：第一次使用前请先在漂洗液WB中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

脱蜡方法：

1. 样本处理
   - 石蜡切片：取石蜡切片（5-10μm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30mg样本，用手术刀切为数块,置于1.5ml离心管中, 加入500μl PBS (10mM，pH7.4)涡旋振荡混匀,12,000 rpm(~13,400×g)室温离心1 min, 弃上清，重复3次,然后从步骤7开始操作。
2. 将石蜡切片或石蜡块样本装于1.5 ml无菌离心管中，加入1ml二甲苯，剧烈涡旋10sec，56℃孵育10min。12,000 rpm(~13,400×g)室温离心2min，弃上清。**注意：不要倒掉沉淀。**
3. 重复二甲苯脱蜡1-2次，直到石蜡去除干净。
4. 在上述管中加入1ml无水乙醇洗去二甲苯，涡旋混匀10sec。12,000 rpm(~13,400×g)室温离心2min，弃上清。**注意：不要倒掉沉淀。**
5. 重复无水乙醇清洗一次。
6. 室温放置5-10 min，充分挥发乙醇。
7. 加入200μl裂解液TL和20μl 蛋白酶K，充分混匀，56℃孵育1 h直至样本完全裂解。
8. 置于90℃孵育1 h。
9. **（可选步骤）**如果要去除RNA，可以将样品中加入2 μl RNase A（100mg/ml），室温孵2 min后，进行下一步操作。
10. 加入200μl 结合液CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在70℃放置10 min。
11. 冷却后加入200μl 无水乙醇，**立刻涡旋振荡充分混匀**，此时可能会出现絮状沉淀。
12. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入一个吸附柱AC中，（吸附柱放入收集

管中）12,000rpm 离心1 min，倒掉收集管中的废液。

13. 加入500μl 抑制物去除液IR，12,000rpm 离心30 sec，弃废液。

14. 加入500μl 漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心30 sec，弃掉废液。

15. 重复操作步骤14 。

16. 将吸附柱AC 放回空收集管中，12,000rpm 离心2 min，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

17. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加30-100μl 洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在65℃水浴中预热效果更好），室温放置3-5 min，12,000rpm离心1 min。为了增加DNA 的回收率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000rpm 离心1 min。

（注意：DNA 产物应保存在-20℃，以防 DNA 降解）