

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—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°C 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°C。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: 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 (5-10 μ m 厚, 1 $\times$ 1 cm² 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 500 μ l PBS (10mM, pH7.4) 涡旋振荡混匀, 12,000 rpm (~13,400 $\times$ 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。
 3. 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 室温离心 2min, 弃上清。 **注意: 不要倒掉沉淀。**
 4. 在上述管中加入 1ml 无水乙醇, 涡旋混匀 10sec。
 5. 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 室温离心 2min, 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. 加入 200 μ l 裂解液 TL 和 20 μ l 蛋白酶 K, 充分混匀, 56°C 孵育 1 h 直至样本完全裂解。
 8. 置于 90°C 孵育 1 h。
 9. **(可选步骤)** 如果要去除 RNA, 可以将样品中加入 2 μ l RNase A (100mg/ml), 室温孵育 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)

BM241121