

## 石蜡组织 DNA 试剂盒说明书

### 产品组成

石蜡组织 DNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	4400005	4400050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 $\mu$ l	1.2 ml
Buffer AT	1.5 ml	15 ml
Buffer SL	1.2 ml	12 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	12 ml
Buffer WB (浓缩液)	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

### 产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于 -20℃ 储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30℃)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上 (2~8℃ 储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用)。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 3~8 片 (面积小于 250 mm<sup>2</sup>) 10  $\mu$ m 的组织切片中分离纯化总 DNA (包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA)。被溶解的动物组织经蛋白酶 K 消化后 DNA 将结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 二甲苯、无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)
5. 水浴锅和旋涡振荡器
6. 陈旧的石蜡组织样本，可能需要 Carrier RNA (Simgen 产品序号：4003101)

### 使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 将水浴锅温度设置到 56℃ 和 90℃，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56℃。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

## 操作步骤：

1. 用手术刀切除石蜡组织标本上多余的石蜡块，将组织块切成5~10  $\mu\text{m}$ 的薄片。
  - \* 如果组织表面暴露在空气中，弃表面的2-3层薄片。
2. 立即收集3~8片组织切片装入一个1.5 ml离心管中，加入1 ml二甲苯，盖上管盖，剧烈地旋涡振荡10秒钟溶解石蜡。
3. 13000 rpm离心2分钟。吸弃上清，保留管底沉淀。
4. 加入1 ml无水乙醇，旋涡振荡数秒悬浮沉淀，13000 rpm离心2分钟。
  - \* 乙醇将洗去残留的二甲苯。
5. 吸弃上清，保留管底沉淀。开盖室温放置10分钟或直至乙醇挥发干净。
6. 加入180  $\mu\text{l}$  Buffer AT和20  $\mu\text{l}$ 蛋白酶K贮存液，旋涡振荡混匀。
7. 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1小时（或者水浴直至组织完全溶解），期间旋涡振荡数次帮助组织溶解。
  - \* 如果水浴后仍有少量不溶物存在，可将1.5 ml离心管在12000 rpm离心1分钟，吸取上清液转移到另一个洁净的1.5 ml离心管中，再按步骤8操作。
8. 90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1小时。
  - \* 此步骤是为了部分复性一些被甲醛变性的核酸。
  - \* 如果只有一个水浴锅，请将离心管取出室温放置，待水浴锅升至90 $^{\circ}\text{C}$ 再将离心管放入进行水浴。
9. 加入200  $\mu\text{l}$  Buffer SL和200  $\mu\text{l}$ 无水乙醇，温和地翻转4~6次混合均匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。
  - \* 如果从陈旧的石蜡组织块中提取DNA，请在此步骤再加入3  $\mu\text{l}$  Carrier RNA（Simgen产品序号：4003101）。陈旧的石蜡组织样本中的DNA降解非常严重，含量很低，必须在Carrier RNA的协助下才能有效地吸附到纯化柱上。
10. 吸取混合液到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于2 ml离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。
  - \* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。
11. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入500  $\mu\text{l}$  Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。
  - \* 确认在Buffer WA中已经加入无水乙醇。
  - \* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
12. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入600  $\mu\text{l}$  Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。
  - \* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。
13. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，14000 rpm离心1分钟。
  - \* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。
  - \* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。
14. 弃2 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml离心管中，在纯化柱中加入60~100  $\mu\text{l}$  56 $^{\circ}\text{C}$ 温育的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm离心30秒。
  - \* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免1.5 ml离心管管盖脱落而损伤离心机。
15. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 备用。