



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
SL I	室温	125ml×2
SL II	室温	60ml
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 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	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 12 个月不影响使用效果。蛋白酶 K 可室温运输，建议-20℃长期保存。

产品介绍：

本试剂盒采用独特的脱蜡方法，不含二甲苯，无刺激性气味，对人体无毒无害。独特的结合液/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 在高离子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. 脱蜡过程无毒无害，操作安全。
2. 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。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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: 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!

脱蜡方法一

- a. 将组织切片 4-5 片, 装入到 2ml EP 管中, 加入 1.5ml SLI 液, 充分振荡。
- b. 65℃ 水浴 30 min, 再次充分混匀, 12000rpm, 4℃ 离心 15 min。
- c. 弃上清, 再加入 1ml SLI 液, 按以上步骤重复 2-3 次。
- d. 沉淀 (组织) 加入 200ul 裂解液 TL 和 1ml SL II 溶液, 加入 20-50ul 蛋白酶 K, 56℃ 水浴过夜。
- e. 观察组织消化情况, 如还有组织未完全消化, 加入 10-20ul 蛋白酶 K, **56℃ 水浴 10-20 min 或直至组织消化完全 (期间可用涡旋充分振荡混匀加速组织消化)。**

脱蜡方法二:

组织切片 (10μm) 2~4 张, 装入 1.5ml 的灭菌 Ep 管中, 加入 1 ml 二甲苯, 充分混匀 10 sec, 全速离心 2 min, 弃上清。加入 1 ml 无水乙醇, 充分混匀, 离心 12,000rpm 2 min, 弃上清。打开 Ep 管, 室温 (15~25℃) 下或 37℃ 孵育 10 min, 直到残余的乙醇全部挥发。(方法二中所需试剂本试剂盒不提供)

- 1.加入 200 μ l 结合液 CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在 70 $^{\circ}$ C 放置 10 min。
- 2.冷却后加入 200 μ l 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。
- 3.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。
- 4.加入 500 μ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液。
- 5.加入 500 μ l 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。
- 6.重复操作步骤 5。
- 7.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。
- 8.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 30-100 μ l 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解）