

石蜡包埋组织/切片 DNA 提取试剂盒

FFPE DNA Extraction Kit

一、产品简介

本试剂盒利用温度差异, 过滤去除石蜡: 65℃温育、90℃解交联过程石蜡为融化状态, 样品组织可充分浸泡于裂解液, 温育结束后石蜡凝固, 转入过滤柱-E 截留去除石蜡, DNA 保留在滤液中。调整结合条件后, DNA 被选择性吸附到硅胶膜上, 获得的 DNA 可直接应用于 PCR、NGS 等后续实验。

本试剂盒方法简便, 无需使用有机溶液脱蜡, 总温育时间 2 小时, 后续操作时间约 15 分钟。

二、试剂盒组成和储存

| 组成内容 | DK615-01 (50 次) | DK615-02 (200 次) | 原理与用途 |
|-------------------------|-----------------|------------------|----------------------|
| Proteinase K* | 1 ml | 1 ml×4 | 降解蛋白 |
| PK plus | 0.25 ml | 1 ml | 辅助 Proteinase K 降解蛋白 |
| Buffer SLA | 30 ml | 120 ml | 分散、裂解细胞、释放 DNA |
| 过滤柱-E | 50 套 | 200 套 | 截留去除石蜡 |
| Buffer GD3 | 15 ml | 60 ml | 调整 DNA 结合条件 |
| Buffer WDA | 30 ml | 120 ml | 洗涤去除蛋白 |
| Buffer WB2 [§] | 16 ml | 65 ml | 洗涤去除盐 |
| DNA 吸附柱-A5 | 50 个 | 200 个 | 选择性吸附 DNA |
| 收集管 | 50 个×2 | 200 个×2 | 接收废液 |
| 1.5 ml 离心管(用于洗脱) | 50 个 | 200 个 | 接收洗脱的 DNA |
| TE* | 15 ml | 30 ml | 洗脱 DNA |
| 说明书 | 1 份 | 1 份 | |

*Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存; 如析出不溶物, 使用前摇晃混合均匀。

[§]Buffer WB2: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇, 混合均匀。

*TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0(25℃)。

所有试剂盒组成成分可于室温储存。

三、注意事项

1. Proteinase K、Buffer SLA、Buffer GD3 和 Buffer EDA 含刺激性化合物, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛, 立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处, 必要时寻求医疗咨询。
2. 使用后应及时盖紧试剂瓶盖, 以免影响下次使用效果。

四、实验准备

65°C 和 90°C 水浴、金属浴或温箱，推荐使用恒温震荡仪

第一次使用前，按试剂瓶所示体积在 Buffer WB2 中加入无水乙醇，混合均匀。

五、操作步骤

所有离心参数为使用台式快速离心机，室温 12,000-16,000×g；如离心机转速只能设定为 rpm，设定为低于最高转速 1,000 rpm。

1. 石蜡切片：刮取 1-8 张切片，转入干净的 1.5ml 离心管（自备），无需脱蜡。

石蜡包埋组织：尽可能切碎组织，称取 <25 mg 组织转入干净的 1.5ml 离心管（自备），无需脱蜡。

2. 加入 **400 µl Buffer SLA**、**20 µl Proteinase K** 和 **5 µl PK plus**，65°C 温育；

温浴 10 分钟后石蜡开始融化，混合均匀，继续温浴 1 小时，间断混合，延长温育时间不影响效果，可温浴过夜。

△ 为方便操作，可事先将 Buffer SLA、Proteinase K 和 PK plus 按照比例预混；三者混合后需 1 小时内使用完。

3. 90°C 温育 1 小时-----! 此步骤为去除 DNA 交联，延长温浴时间会导致 DNA 更严重的片段化

4. 将步骤 3 的溶液连同石蜡转入**过滤柱-E**(置于 2 ml 离心管)，室温放置 5 min，离心 30 秒，丢弃过滤柱-E，保留滤液。

5. 在步骤 4 的滤液中加入 **250 µl Buffer GD3**，翻转离心管 5 次或移液器吹打 3 次，转入 DNA 吸附柱-A5（置于收集管）。

6. 离心 1 min，将 DNA 吸附柱-A5 放入另外一个干净的收集管中。

7. 加入 **500 µl Buffer WDA**，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-A5 放回收集管中。

8. 加入 **500 µl Buffer WB2**，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-A5 放回收集管中。

9. 加入 **100 µl Buffer WB2**，离心 1 min。

10. 将 DNA 吸附柱-A5 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管，向硅胶膜的中央加 10-200 µl TE 或去离子水(pH≥7.0)，离心 1 min。

△ 56-70°C 预热 TE 或者去离子水(pH≥7.0)，可以提高洗脱效率。

△ 如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至≥7.0。

△ 重复洗脱可以提高洗脱效率。重复洗脱的两种方法：

a. 洗脱的 DNA 溶液转入 DNA 吸附柱中进行洗脱，获得的 DNA 浓度高于方法 b；

b. 重新加入洗脱液进行洗脱，洗脱效率高于方法 a。