

磁珠法石蜡包埋组织 DNA 提取试剂盒

使用说明书

【目录号】

HRK-CC102-50

HRK-CC102-100

【组分说明】

试剂成分	50 次	100 次
Buffer TL	10 ml	20 ml
Buffer FTB	2.5 ml	5 ml
Buffer BB	10 ml	20 ml
Buffer WB1	30 ml	60 ml
Buffer WB2	30 ml	60 ml
Proteinase K	15 mg	30 mg
Magbeads	1 ml	2 ml
Proteinase Buffer	800 μ l	1.6ml
Buffer TB	4 ml	8 ml

【产品简介】

本试剂盒适用于从福尔马林固定、石蜡包埋的组织中有效纯化总 DNA，包括基因组 DNA 和线粒体 DNA。本品使用专门优化的裂解液和蛋白酶 K，释放福尔马林固定或组织切片样本中的 DNA，无需过夜操作；消化后的样品在较高的温度孵育后，去除由福尔马林交联造成的抑制作用，有效提高 DNA 的产量和纯度；整个过程不涉及有机试剂二甲苯，安全可行、简单快速；提取的基因组完整性好，纯度高，质量稳定可靠。

【储存条件及有效期】

- 存储温度：20°C \pm 5°C
- 在正确储存条件下，试剂盒有效期为 6 个月。

【自备试剂仪器】

1. 磁力架；
2. 金属浴或恒温震荡混匀仪；
3. 反转混匀仪；

4. 分析级酒精；
5. 分析级异丙醇；

【注意事项】

1. 本试剂盒仅用于科学研究，开始试验前，应仔细阅读此说明书。
2. 不可将本产品中的组分和其他公司的产品混合使用。
3. 磁珠悬液严禁冰冻、离心。冰冻和离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
4. 第一次使用前应按照“试剂准备”要求对各组份进行处理，并做好标记。
5. 磁珠悬液在使用前一定要涡旋震荡，使之充分混匀。
6. 避免试剂接触皮肤、眼睛和粘膜，如接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗，必要时请寻求医疗帮助。

1、试剂准备（以 50 人份为例）

- 1.1 Buffer WB1 配制：结合标签提示，向 Buffer WB1 中加入 40mL 的无核酸酶无水乙醇（100 人份/盒的需加入 80 mL 无核酸酶无水乙醇），摇匀后备用，并在试剂瓶标签的方框内做标记。
- 1.2 Buffer WB2 配制：结合标签提示，向 Buffer WB2 中加入 45 mL 的无核酸酶无水乙醇（100 人份/盒的需加入 90 mL 无核酸酶无水乙醇），摇匀后备用，并在试剂瓶标签的方框内做标记。
- 1.3 向 Proteinase K 中加入指定量的 Proteinase Buffer 使其浓度 20mg/ml。如 15mg 中加入 750 μ l 的 Proteinase Buffer，30mg 中加入 1.5ml 的 Proteinase Buffer（分装后，-20°C 保存）。

2、实验步骤

- 2.1 用刀片去除组织周围多余石蜡，之后切取 5-8 片 5-10 μ m 的石蜡卷放入 1.5 ml 离心管中。加入 200 μ l 的 Buffer TL，涡旋震荡 10s，短暂离心，使样本沉到底部。
- 2.2 将离心管置于恒温震荡仪上，56°C 孵育 5min，1300rpm，（对于无震荡功能的金属浴，可手动震荡）。注：可提前将恒温震荡仪设置至 56°C。温室冷却后，如果 DS 溶液凝固，则补充加入 100 μ l Buffer DS 再 56°C 重新孵育。
- 2.3 室温冷却后加入 135 μ l 的无酶水，短暂离心 30S 后，小心吸弃上层 TL 溶液，尽量吸弃干净。
- 2.4 再加入 50 μ l 的 Buffer FTB，15 μ l Proteinase K，涡旋混匀，短暂离心。
- 2.5 在恒温混匀仪上 56°C 孵育 30min-60min，1300rpm，（孵育时间以所有组织全部溶解为准；对于无法震荡的金属浴，可手动每隔 10min 震荡一次）。
- 2.6 调整恒温加热器温度，温度升至 90°C 后，将上述反应管 90°C，孵育 30min。

2.7 加入 200 μ L Buffer BB, 涡旋混匀, 再加入 20 μ L 磁珠、300 μ L 异丙醇, 在翻转混匀仪上翻转 5min(无反转混匀仪的, 可手动颠倒混匀 5min)。

注: 若样品较多, 磁珠与异丙醇可按 1:15 先混匀之后再分装 320 μ l 至 EP 管中。

2.8 将 EP 管置于磁力架上静置 1-2 min 进行磁分离, 待磁珠完全被吸附后, 吸弃上清液, 避免吸弃磁珠。

2.9 向 EP 管中加入 700 μ L Buffer WB1 溶液(注: 使用前加入所需无水乙醇), 取下离心管在涡旋混匀仪上涡旋震荡 30s; 之后放入在磁力架 30s, 待磁珠完全被吸附后, 吸弃上清液, 避免吸弃磁珠。

2.10 重复步骤 2.9。

2.11 向 EP 管中加入 700 μ L Buffer WB2 溶液(注: 使用前加入所需无水乙醇), 取下离心管在涡旋混匀仪上涡旋震荡 30s; 之后放入在磁力架 30s, 待磁珠完全被吸附后, 吸弃上清液, 避免吸弃磁珠。

2.12 重复步骤 2.11。

2.13 将离心管盖打开, 室温放置 5-10 min, 使酒精挥发干净。

注: 乙醇残留会影响后续实验, 所以晾干时要确保乙醇挥发干净, 但也不可干燥过头, 否则 DNA 很难溶解。

2.14 向 EP 管加入 20-100 μ L Buffer TB 洗脱液, 涡旋震荡 15sec 使磁珠重新悬浮; 在恒温混匀仪上 65°C, 1300rpm, 震荡混匀 10min 后取下离心管放置磁力架上 30s, 后转出 DNA 产物, -20°C 保存备用。

注: 根据实验需求以及样品的具体情况加入适量的 Buffer TB, 但体积不应少于 20 μ l, 体积过小, 会影响回收效率。