杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030 电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

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	250 次制备
Cat. No.	4400005	4400050	4400250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μl	1.2 ml	1.2 ml×5
Buffer AT	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer SL	1.2 ml	12 ml	60 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml	56 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml	50 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 - 20℃储存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

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^2）10 μm 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℃。

注意：当室温低于 15℃时，Buffer AT 可能会有沉淀析出，温育后请仔细观察沉淀是否完全溶解，并颠倒混匀后再使用。

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 μm 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 μl Buffer AT 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液，旋涡振荡混匀。**
7. **56℃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℃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℃再将离心管放入进行水浴。

9. **加入 200 μl Buffer SL 和 200 μl 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 μl 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 收集管中）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 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 500 μl 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，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。

12. **弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 600 μl 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 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，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 收集管，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 μl 56℃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℃备用。**