

(DP331) 石蜡包埋组织DNA 提取试剂盒操作指南

天根生化科技（北京）有限公司

版本号：20170412

实验准备

1. 石蜡切片或石蜡块
2. 无水乙醇 二甲苯
3. 移液器及配套无菌枪头（10 μ l， 200 μ l， 1ml）， 1.5 ml 离心管
4. 涡旋振荡器， 金属浴/水浴， 台式离心机



实验准备-试剂盒准备

使用前先在漂洗液PW和GD中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。



Step 1



取石蜡切片（5-10 μm 厚， $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 大小）5-8张。

注意：如果样品表面暴露于空气中，最初刮取的2~3片弃掉不用。

Step 2



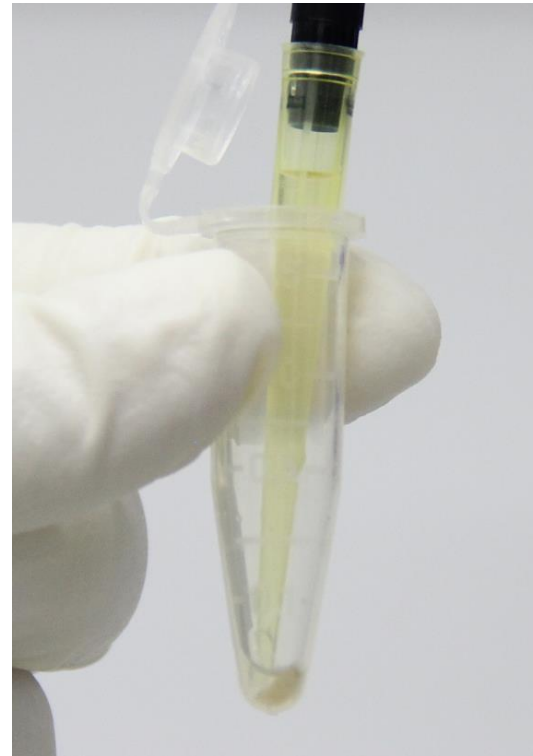
将样本装于1.5 ml无菌离心管中，加入1 ml 二甲苯，剧烈涡旋10 sec。

Step 3



12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 室温离心2 min,
弃上清。

注意：不要倒掉沉淀（可以用移液枪操作）。



Step 4



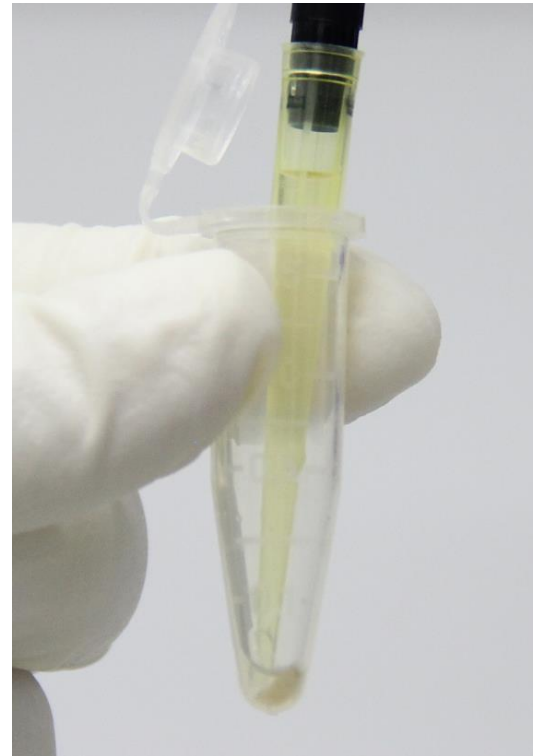
在上述管中加入1 ml无水乙醇，涡旋混匀10 sec。

Step 5



12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 室温离心 2 min,
弃上清。

注意：不要倒掉沉淀（可以用移液枪操作）。



Step 6



室温放置5-10 min，充分挥发乙醇。

Step 7



加入200 μ l缓冲液GA和20 μ l Proteinase K



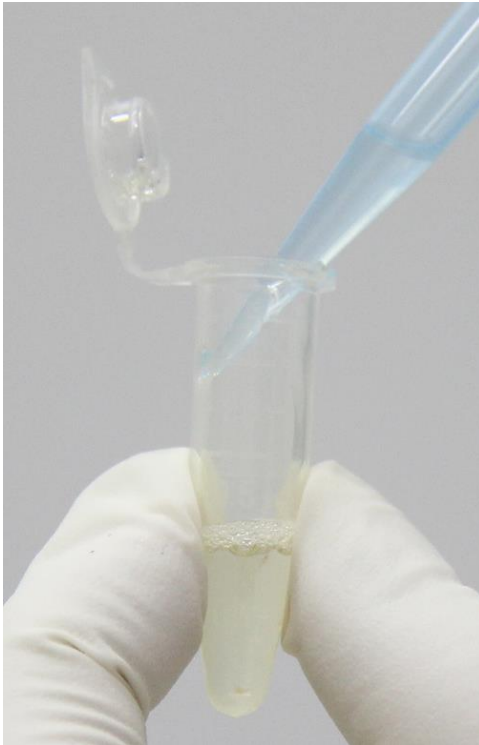
充分混匀，56°C孵育1 h直至样本完全裂解。

Step 8



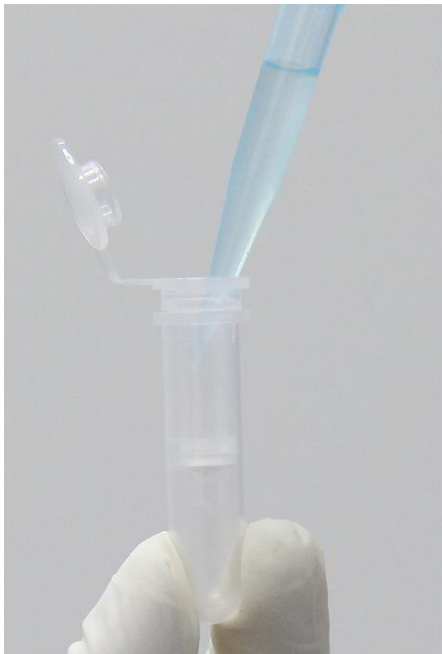
置于90°C孵育1 h

Step 9



加入220 μl 缓冲液GB涡旋混匀，
再加入250 μl 无水乙醇，涡旋震荡
充分混匀，短暂离心使管壁上的溶
液收集到管底。

Step 10

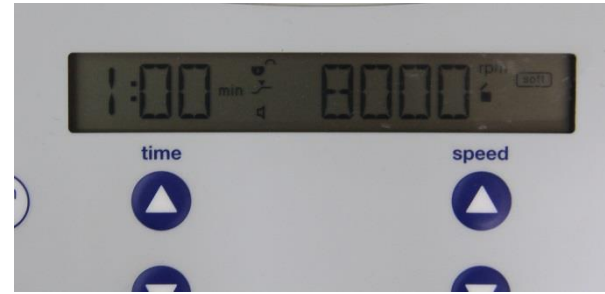


将上一步所得的混合液加入一个吸附柱CR2中，8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心2 min，倒掉收集管中的废液，重新将吸附柱放回收集管中。

Step 11



向吸附柱CR2中加入500 μ l缓冲液GD。



8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中

Step 12



向吸附柱CR2中加入600 μ l 漂洗液PW。



8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中

Step 13 重复步骤 Step 12

Step 14



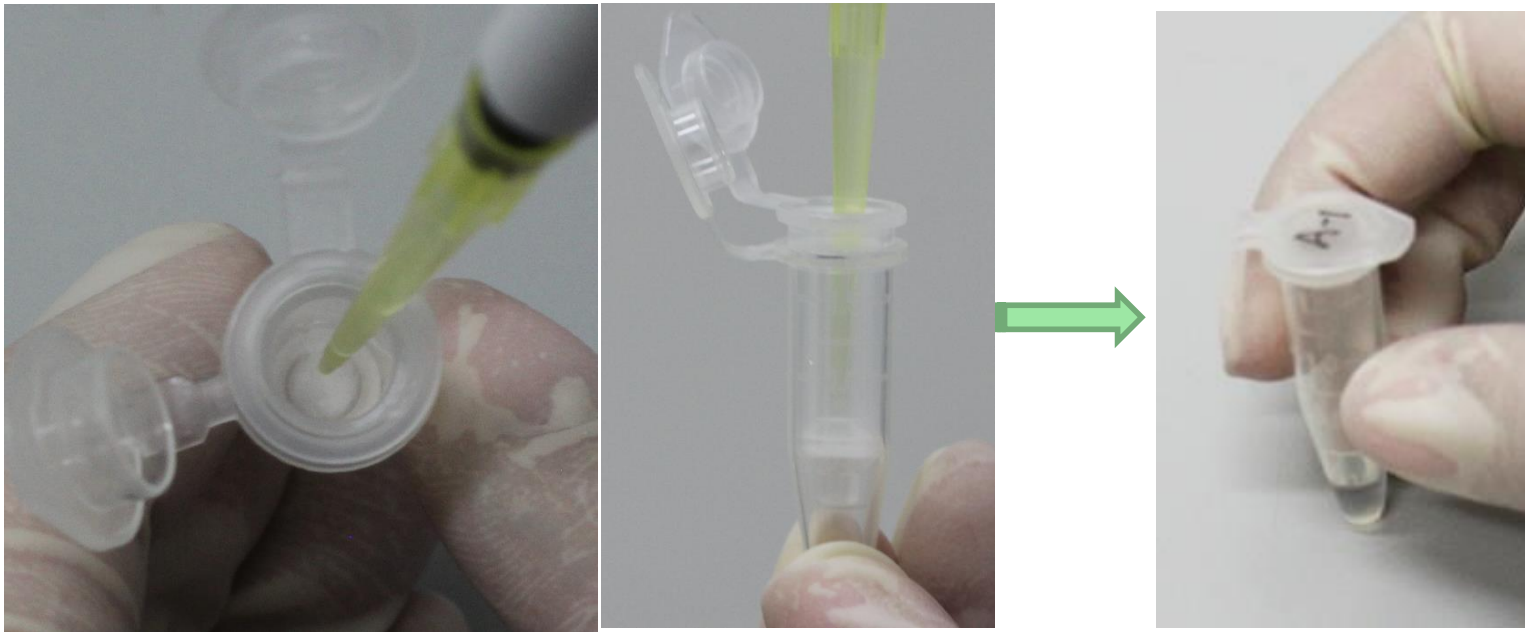
将吸附柱CR2放回废液收集管中，12,000 rpm (~13,400 × g)离心2 min，倒掉废液。



吸附柱CR2室温放置2-5 min 彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

Step 15



将吸附柱CR2转入干净的新1.5 ml离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加65°C预热的30-100 μ l洗脱缓冲液TE或ddH₂O洗脱，室温放置2-5min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，将收集有DNA的离心管-20°C保存。