

## A&DNext 石蜡组织 DNA 提取试剂盒说明书

### 产品组成

A&DNext 石蜡组织 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-4400005	50 次制备 A-4400050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 $\mu$ l	1.2 ml
Buffer AT	1.5 ml	15 ml
Buffer SL	1.2 ml	12ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

### 产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于 -20℃ 贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

### 技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com) 电话：010-57225208。

### 产品介绍

本产品适合从 3~8 片（面积小于 250 mm<sup>2</sup>）10  $\mu$ m 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. 1.5ml 离心管
3. 移液器及吸头
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 水浴锅和旋涡振荡器
7. 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℃。
- 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作好“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，剧烈地漩涡振荡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，漩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，漩涡振荡混匀。**

**7. 56 °C水浴1小时（或者水浴直至组织完全溶解），期间漩涡振荡数次帮助组织溶解。**

**8. 90 °C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 °C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. 吸取步骤 9 中的混合液加入到核酸纯化柱中，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 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，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，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

**12. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，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 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，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 2ml 离心管，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 °C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 1.5ml 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 °C备用。**