

## 石蜡组织切片 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

### 使用说明书

【货号】 A2010A113

【规格】 50T

【产品说明】 版本：2020版-01

【产品名称】

通用名称：石蜡组织切片DNA提取试剂盒（磁珠法）

【试剂盒组成】

试剂名称	规格
[脱蜡剂]	50mL× 1瓶
[溶解液]	10mL× 1瓶
[裂解液]	10mL× 1瓶
[蛋白酶混合液]	1mL× 1支
[洗涤液A]	45mL× 1瓶
[洗涤液B]	12mL× 2瓶
[洗脱液]	5mL× 1瓶
[磁珠悬液]	500 $\mu$ L× 1支

#### 【预期用途】

本试剂盒用于石蜡组织切片提取、纯化 DNA，提取产物纯度高、片段完整，适用于分子生物学研究及下游应用。

#### 【储存条件及有效期】

蛋白酶混合液 2-8℃ 保存，其余试剂室温（15-25℃）保存，有效期一年。

#### 【用户自备试剂】

异丙醇、无水乙醇

### 【用户自备器材】

与核酸提取仪器配套的 96 孔深孔板及搅拌套、磁力架(手工法提取使用)

### 【适用仪器】

奥盛、天隆等自动核酸纯化仪

### 【样本要求】

石蜡组织切片不超过10 $\mu$ m厚度切片。如果没有起始样本的信息，建议初次制备采用的切片数应不超过 2 片，然后根据得率和纯度，下次制备采用的切片数可以进行调整，但应不超过5片。

### 【操作前准备】

向洗涤缓冲液B试剂瓶中加入34mL无水乙醇，充分混匀配置成洗涤液B工作液用于后续核酸提取过程，配制完毕后请在瓶身及瓶盖标记“√”。

### 【样本预处理】

1. 取石蜡切片接入到1.5mL离心管中，加入1000 $\mu$ L脱蜡剂。
2. 80 $^{\circ}$ C脱蜡10分钟，期间间断性颠倒混匀脱蜡。脱蜡结束时，管内无石蜡片、液体趋于透明，组织样本悬浮于液体中。

注：若脱蜡后液体浑浊，仍可看到未溶解的白色石蜡，可适当增加脱蜡剂的用量，重复脱蜡步骤。

3. 迅速取出离心管并加入200 $\mu$ L无水乙醇（取出后温度不可大幅降低，建议样本量大的时候分批次操作，每批次不超过4管），12000rpm离心3min沉淀组织，用移液器吸头清除析出石蜡层，尽量清除析出石蜡并小心不要搅动沉淀组织，石蜡层除去后再吸除上层清液，留下200 $\mu$ L体积液体以及组织沉淀混合物。

4. 吸出上述混合物至一个干净的1.5mL离心管，加入200 $\mu$ L溶解液以及20 $\mu$ L蛋白酶混合液。65 $^{\circ}$ C消化10min，期间每隔3分钟颠倒离心管10次。

5. 上述液体中加入200 $\mu$ L裂解液，65 $^{\circ}$ C消化10min，期间每隔3分钟颠倒离心管10次。

6. 最后置于已经加热至90 $^{\circ}$ C水浴锅静置5min。冷却至室温后待用。

## 【操作步骤】

### 一、核酸提取仪自动提取

1、于抽提96孔板第1、7列孔位加入600 $\mu$ L预处理好的石蜡组织样本混合液，以及300 $\mu$ L异丙醇和10 $\mu$ L磁珠。

2、于抽提96孔板第2、8列孔位加入900 $\mu$ L洗涤液A。

3、于抽提96孔板第3、9列孔位加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液。

4、于抽提96孔板第4、10列孔位加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液。

5、于抽提96孔板第5、11列孔位加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液。

6、于抽提96孔板第6、12列孔位加入100 $\mu$ L洗脱液。

7、将加好样的96孔板置于抽提仪器内，放置搅拌套，设置核酸提取仪程序并运行，可参考表1运行程序进行设置。

8、程序结束后，第6列和12列孔位内的洗脱液为核酸产物，可短期保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存于-70 $^{\circ}$ C。

### 二、手工法提取

备注：无磁力架请按照下面进行操作：更改磁力架分离，改离心机操作方式：8000 rpm离心1min；

1. 向上述预处理好的石蜡组织样本中加入300 $\mu$ L异丙醇、10 $\mu$ L磁珠悬液，立即高速旋涡震荡10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次），60 $^{\circ}$ C孵育15分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。室温放置5分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。

2. 将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。

3. 移去磁力架，加入900 $\mu$ L洗涤液A，低速旋涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。

4. 移去磁力架，加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液，低速旋涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁

珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，**注意不能将磁珠吸出。**

5. 移去磁力架，加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液，用移液器吹散磁珠后将液体带磁珠全部转移入新的离心管内。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，**注意不能将磁珠吸出。**

6. 移去磁力架，加入600 $\mu$ L洗涤液B工作液，低速漩涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。瞬时低速离心，将离心管置于磁力架上，静置直至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内液体。**特别注意：务必吸尽离心管内残留液体，可以多次吸取液体，但不能将磁珠吸出。**

7. 打开管盖，于室温干燥2-3分钟，至磁珠表面无明显液体。将洗脱液放置于80 $^{\circ}$ C预热（2-3分钟）。

8. 移去磁力架，加入50-100 $\mu$ L预热好的洗脱液，用枪头吹吸至磁珠分布均匀或高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。80 $^{\circ}$ C温育10分钟，期间每隔1分钟左右摇晃离心管10-15次（切勿颠倒），使管内磁珠始终保持均匀分布的状态。温育结束后，将离心管高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。

9. 将离心管置于磁力架上，静置直至磁珠全部吸附到管壁，吸取上清到一个无核酶干净的离心管中，此即为纯化后的DNA核酸溶液。可短期保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存于-70 $^{\circ}$ C。

### 【参考值范围】

对于不同的石蜡切片样本，得到的DNA产量和纯度会有差异，通常2片常规10 $\mu$ m石蜡切片样本，DNA产量可达1 $\mu$ g；OD260/280：1.8左右，OD260/230：1.8以上。

### 【注意事项】

1. 所有试剂必须为完全澄清的液体，如果出现浑浊或者沉淀，请将其置于37 $^{\circ}$ C孵育直至澄清。

2. 为了达到最佳脱蜡效果，建议使用水浴锅进行样本预处理，并确保水浴锅的温度准确达到设定温度后继续操作。

3. 本试剂建议石蜡组织切片不超过10 $\mu$ m厚度切片，切片用量不超过5片。若使用的样本较厚或石蜡切片大于5片，建议适当增加脱蜡剂用量。

4. 脱蜡结束时，管内无石蜡片、液体趋于透明，组织样本悬浮于液体中；若脱蜡后液体浑浊，仍可看到未溶解的白色石蜡，可适当增加脱蜡剂的用量，重复脱蜡步骤。

5. **磁珠悬液室温保存，切勿冷冻。**使用前混匀，建议每加8个样本充分混匀一次。

6. 水浴锅、金属浴、核酸提取仪器温度设置需要考虑到仪器显示温度与深孔板内实际温度的偏差，并适当调整，确保液体内温度准确。

7. 提取过程中发现磁珠有小块凝结，属于核酸结合磁珠的正常现象，若发现磁珠凝聚成单一块状且洗涤过程依旧成块，请减少样本数量。

8. 洗脱步骤可能会存在磁珠残留，吸取样品进行后续操作时应尽量避免吸入磁珠。

9. 手工提取步骤1和步骤8，可将离心管放置于恒温杂交仪中加热并持续保持混匀，使磁珠均匀分散。

10. 本试剂盒涉及的检测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。

**品质保证：**所有产品由 BioTNT 进行品质保证。如果客户使用中有任何问题，都可以联系 BioTNT 公司。