产品组分

组分名称	组分编号	规格 50 RXN
吸附柱 4（Spin Column 4）	RM30183	50 个
收集管（Collection Tube 2mL）	RM30192	50 个
脱蜡液（Deparaffinization Buffer）	RM30120	40 mL
消化液（Digestion Buffer）	RM30121	15 mL
结合液（Binding Buffer）	RM30122	15 mL
洗涤液 1（Wash Buffer 1）	RM30123	30 mL
洗涤液 2（Wash Buffer 2）	RM30124	100 mL
洗脱液（Elution Buffer）	RM30125	15 mL
蛋白酶 K（Proteinase K）	RM30126	1.8 mL

注：1. 不同批号试剂盒的以上成分不可以互换使用；如果液体有沉淀析出，请于 56℃预热，完全溶解后再使用。

2. 本试剂盒中洗涤液 1（Wash Buffer 1）和洗涤液 2（Wash Buffer 2）中已加入无水乙醇，无需自行加入。

产品说明

本试剂盒基于硅胶柱纯化技术，为石蜡包埋组织和石蜡组织切片的总 DNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。得到的 DNA 可直接用于 PCR、Southern Blot、病毒 DNA 检测等实验。对组织样品，直接裂解和消化，释放出来的核酸成分选择性吸附于特殊材料离心柱内硅基质膜，随后通过洗涤液的作用，将蛋白质、无机盐离子和许多有机杂质去除，最后用洗脱液将纯净的核酸洗脱下来。

保存条件

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。低温下，消化液（Digestion Buffer）可能会有沉淀形成，需 56℃水浴让沉淀完全溶解。

适用范围

适用于石蜡包埋组织和石蜡组织切片的总 DNA 提取，得到的 DNA 可直接用于 PCR、Southern Blot、病毒 DNA 检测等实验。

注意事项

实验前请仔细阅读本说明书。

1. 为了避免样本中任何潜在的生物危险，检测样本应视为具有传染性物质，避免接触到皮肤和粘膜；样本的处理建议在可防止气雾外流的生物安全柜中操作，样本制备区所用过的试管、吸头需打入盛有消毒剂的容器，并与废弃物一起灭菌后方可丢弃；样本操作和处理均需符合相关法规要求：卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》。
2. 试剂盒中组分需在效期内使用，不使用本试剂盒提供的组分进行实验将可能导致错误结果。
3. 实验室管理应严格按照 PCR 基因扩增实验室的管理规范，实验人员必须进行专业培训，实验过程严格分区进行（试剂准备区、样本制备区、扩增和产物分析区），所用消耗品应灭菌次性使用，实验操作的每个阶段使用专用的仪器和设备，各区各阶段用品不能交叉使用。
4. 使用经高压灭菌的一次性离心管和吸头或购买无 DNA/RNA 酶的离心管和吸头。
5. 完成样本核酸提取后，建议马上进行下一步实验，否则请保存于-20℃待用（24 小时内）。
6. 实验完毕用 5%次氯酸或 75%酒精处理工作台和移液器,然后紫外线灯照射 20～30 分钟。

操作说明

实验前准备

1. 56℃和 90℃水浴锅
2. 无水乙醇
3. 二甲苯（可选，若选用无毒脱蜡液 Deparaffinization Buffer，则无需准备）

实验方法

1. 用干净刀片小心去除多余石蜡，把样品(< 20 mg)剪切成尽量小的碎片或切片，并转移至 1.5 mL 离心管中。

   注：把石蜡样品切成 10～20 μm 薄片，有利于消化。若受条件限制无法切成薄片，也可以用剪刀或刀片把样品剪切成尽量小的碎片。

2. 按以下方案 A 或者方案 B 去除石蜡。

   方案 A：二甲苯去除石蜡

   A1. 加入 1 mL 二甲苯至样品中，高速涡旋 10～30 秒，短暂离心让样品浸泡到二甲苯中，56℃水浴 5 分钟，剧烈涡旋 15 秒。

   A2. 14,000 × g 离心 2 分钟，小心吸弃上清液，不要吸到沉淀。

   A3. 加入 1 mL 无水乙醇，涡旋 10～30 秒，14,000 × g 离心 2 分钟。

   A4. 彻底吸弃上清液，不要吸到沉淀。

   A5. 打开管盖，室温或 37℃干燥 10-15 分钟以彻底去除乙醇。

   A6. 按第 3 步进行操作。

   方案 B：无毒脱蜡液去除石蜡

   B1. 加入 0.6 mL 脱蜡液（Deparaffinization Buffer）至样品中，剧烈涡旋 5 秒。

   B2. 短暂离心让样品浸泡到脱蜡液（Deparaffinization Buffer）中，56℃水浴 5 分钟，剧烈涡旋 15 秒。

   B3. 14,000 × g 离心 2 分钟。

   B4. 彻底吸弃上清液，不要吸到沉淀，按第 3 步进行操作。

3. 加入 200 μL 消化液（Digestion Buffer）和 20 μL 蛋白酶 K 至样品中，涡旋混匀。56℃温浴 1～2 小时或直到样品完全消化，其间需颠倒混匀数次。样品也可以消化过夜，过夜消化对提取结果无负面影响。
4. 90℃水浴 60 分钟。90℃处理可以去除 DNA 与蛋白质的交联，明显提高 DNA 的产量。
5. (可选)若消化液（Digestion Buffer）仍存在明显不消化的杂质，10,000 × g 离心 3 分钟去除杂质。转移上清液至新的离心管。若需去除 RNA，待样本静置至室温后，加入 5 μL 的 RNase A（100 mg/mL）至上清中，静置 5 分钟。
6. 加入 200 μL 结合液（Binding Buffer）和 200 μL 无水乙醇至样品中，涡旋混匀 15 秒。处理多个样品时，结合液（Binding Buffer）和无水乙醇可按 1:1 比例预先混合。
7. 把吸附柱 4 装在收集管中，转移混合液至吸附柱。10,000 × g 离心 30～60 秒。
8. 倒弃滤液，把吸附柱 4 装回收集管中，加入 500 μL 洗涤液 1（Wash Buffer 1）至吸附柱上，10,000 × g 离心 30～60 秒。
9. 倒弃滤液，把吸附柱装回收集管中，加入 650 μL 洗涤液 2（Wash Buffer 2）至吸附柱中，10,000 × g 离心 30～60 秒。
10. 倒弃滤液，把吸附柱 4 装回收集管中，10,000 × g 离心空吸附柱 3 分钟。
11. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，50～100 μL 洗脱液（Elution Buffer）至吸附柱的膜中央。室温放置 1 分钟，10,000 × g 离心 1 分钟。

    注：为提高洗脱效率（可选），可加入 50～100 μL 经 56℃预热的洗脱液（Elution Buffer）至吸附柱的膜中央，56℃孵育 5 分钟，10,000 × g 离心 1 分钟。

12. 丢弃吸附柱，把 DNA 保存于 2～8℃，长期保存需放置于-20℃或-80℃。

简易方案

J1. 把石蜡组织切片(1～3 片)转移至 1.5 mL 离心管。加入 0.6 mL 脱蜡液（Deparaffinization Buffer）至样品中，剧烈涡旋 5 秒。短暂离心让样品浸泡到脱蜡液（Deparaffinization Buffer）中，56℃水浴 5 分钟，剧烈涡旋 15 秒。

J2. 14,000 × g 离心 2 分钟让组织块沉淀到管底。

J3. 加入 200 μL 消化液（Digestion Buffer）和 20 μL 蛋白酶 K 至管底，轻轻吸打混匀 3～5 次，短暂离心让样品浸泡于消化液（Digestion Buffer）中。

J4. 56℃温浴 60 分钟，90℃温浴 60 分钟。

J5. 14,000 × g 离心 1 分钟。转移下层裂解液至新的离心管中，按常规方案的第 5～12 进行操作。(上层为石蜡和脱蜡液形成的有机相)

    注：样品提取效率与操作者是否严格按照说明书操作有关。如果样本处理时没有控制好交叉污染，可能出现假阳性结果。