石蜡组织基因组 DNA 快速提取试剂盒

BMamp Rapid FFPE DNA Kit

产品信息：

试剂盒组成	保存	DL130-01（50 次）
SL Ⅰ	室温	125ml×2
SL Ⅱ	室温	60ml
裂解液 TL	室温	11ml
结合液 CB	室温	11ml
抑制物去除液 IR	室温	25ml
漂洗液 WB	室温	15ml 第一次使用前加入 60ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
蛋白酶 K（20mg/ml）	室温	1ml
吸附柱 AC	室温	50 个
收集管（2ml）	室温	50 个

保存条件：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍：

本试剂盒采用独特的脱蜡方法，不含二甲苯，无刺激性气味，对人体无毒无害。独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗－离心的步骤，抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点：

1.脱蜡过程无毒无害，操作安全。

2.重复性好:离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。

3.多次柱漂洗确保高纯度，OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7～1.9，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

注意事项：

1.结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃水浴几分钟帮助重新溶解，**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。

2.避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。

3.结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**

4.洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保批 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在-20℃。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

自备试剂：无水乙醇。

操作步骤：

提示：第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

脱蜡方法一

a.将组织切片 4-5 片，装入到 2ml EP 管中，加入 1.5mlSLI 液，充分振荡。

b.65℃水浴 30 min，再次充分混匀，12000rpm，4℃离心 15 min。

c.弃上清，再加入 1mlSLI 液，按以上步骤重复 2-3 次。

d.沉淀（组织）加入 200ul 裂解液 TL 和 1mlSLⅡ溶液，加入 20-50ul 蛋白酶 K，56℃水浴过夜。

e.观察组织消化情况，如还有组织未完全消化，加入 10-20ul 蛋白酶 K，**56℃水浴 10-20 min 或直至组织消化完全（期间可用涡旋充分振荡混匀加速组织消化）。**

脱蜡方法二：

组织切片（10μm）2～4 张，装入 1.5ml 的灭菌 Ep 管中，加入 1 ml 二甲苯，充分混匀 1 0 sec，全速离心 2 min，弃上清。加入 1 ml 无水乙醇，充分混匀，离心 12,000rpm 2 min，弃上清。打开 Ep 管，室温(15～25℃)下或 37℃孵育 10 min，直到残余的乙醇全部挥发。**（方法二中所需试剂本试剂盒不提供）**

a.加入 200μl 结合液 CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在 70℃放置 10 min。

b.冷却后加入 200μl 无水乙醇，**立刻涡旋振荡充分混匀**，此时可能会出现絮状沉淀。

c.将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液。

d.加入 500μl 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液。

e.加入 500μl 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心 30 sec，弃掉废液。

f.重复操作步骤 5。

g.将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 min，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

h.取出吸附柱 AC，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加 30-100μl 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65℃水浴中预热效果更好），室温放置 3-5 min，12,000rpm 离心 1 min。为了增加 DNA 的回收率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 2 min，12,000rpm 离心 1 min。

（注意：DNA 产物应保存在-20℃，以防 DNA 降解）

BM190905