

石蜡包埋组织 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] FFPE DNA Kit

货号	D3399-00	D3399-01	D3399-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
MicroElute [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	15 个	150 个	600 个
BL Buffer	1.5 mL	12 mL	48 mL
FTL2 Buffer	1.5 mL	12 mL	48 mL
HBC Buffer	3 mL	25 mL	80 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	3 x 20 mL
Elution Buffer	5 mL	10 mL	40 mL
Proteinase K Solution	140 μ L	1.4 mL	4 x 1.4 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. Proteinase K Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. 当贮存温度较低时，FTL2 Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3399-00	8 mL	1.2 mL
D3399-01	60 mL	10 mL
D3399-02	80 mL (每瓶)	32 mL

★ 石蜡包埋样品提取步骤 —— 二甲苯处理方案

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5 mL 或 2 mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、二甲苯
- ✓ 温度可达 37°C、55°C、70°C 和 90°C 的孵育装置
- ✓ (可选) RNase A (20mg/mL)、3M NaOH

1. 在 1.5mL 或 2mL 离心管中加入 1mL 二甲苯，备用；
2. 切下 3-8 片厚度 5-10 μ m 的石蜡切片组织立即加到二甲苯的离心管中，涡旋混匀 20 s；

注意：建议弃除切片最前端的 2-3 片

3. 室温 12,000xg 离心 2min，弃上清，切勿吸到沉淀物；
4. 加入 1mL 无水乙醇，涡旋混匀。室温 12,000xg 离心 5min，弃上清；
5. 打开离心管盖子，用移液枪把残留的乙醇彻底吸干，并置于 37°C 烘箱中 15min 干燥沉淀，务必使乙醇完全挥发；
6. 加 200 μ L FTL2 Buffer，20 μ L Proteinase K Solution，涡旋混匀；
7. 置于水浴锅中 55°C 孵育 3 h；

注意：如有需要，或组织难以消化，可过夜孵育。

8. 90°C 孵育 10-30 min, 短暂离心收集管盖液滴;
可选: 如需提取得到无 RNA 污染的 gDNA, 可在此步加入 10 μ L RNase A (20 mg/mL, 自备), 室温孵育 5 min。
9. 加入 220 μ L BL Buffer, 涡旋混匀;
10. 加入 250 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀;
11. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入收集管中;
可选柱平衡处理:
 - 1) 往空 MicroElute[®] DNA Mini Columns 内加入 100 μ L 3M NaOH;
 - 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液。
12. 转移第 10 步得到的混合液到结合柱中, 室温 10,000xg 离心 1min, 弃滤液和收集管;
13. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入收集管中, 加入 500 μ L HBC Buffer (已加异丙醇正确稀释) 至结合柱中, 10,000xg 离心 1 min, 弃滤液和收集管;
注意: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。
14. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 加入 700 μ L DNA Wash Buffer (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
注意: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
15. 重复步骤 14 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤;
16. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
17. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-75 μ L 70°C 预热的 Elution Buffer 至结合柱中, 室温放置 3min, 然后 10,000xg 离心 1min 洗脱 DNA,
18. 重复步骤 17 进行二次洗脱, 产物放置 -20°C 保存。
注意: 以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。
 - 加入 Elution Buffer 后, 孵育 5min。
 - 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。
 - 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可以提高产量, 但是会降低浓度)。
 - 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱。

★ 石蜡包埋样品提取步骤 —— 加热除蜡方案

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5 mL 或 2 mL 离心管、枪头
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 55°C、70°C 和 90°C 的孵育装置
- ✓ (可选) RNase A (20mg/mL) 、3M NaOH

1. 切下 3-4 片厚度 5-10 μm 的石蜡切片组织放置于新的 1.5 mL 或 2 mL 无酶离心管中；
注意：建议弃除切片最前端的 2-3 片。
2. 加 200 μL FTL2 Buffer，涡旋 20s 混匀；
3. 90°C 孵育 15 min，融化石蜡。期间轻轻摇晃 2-3 次混匀，确保组织切片浸泡在溶液里面；
4. 室温冷却 5min 后，加入 20 μL Proteinase K Solution，涡旋混匀；
注意：如果样品温度过高，Proteinase K Solution 会失活。
5. 置于水浴锅中 55°C 孵育 3 h，短暂离心收集管盖液滴；
注意：如有需要，或组织难以消化，可过夜孵育。
可选：如需提取得到无 RNA 污染的 gDNA，可在此步加入 10 μL RNase A (20 mg/mL，自备)，室温孵育 5 min。
6. 加入 220 μL BL Buffer，涡旋混匀；
7. 加入 250 μL 无水乙醇，涡旋混匀；
8. 按照“二甲苯处理方案”步骤 11-18 进行操作。

★ 真空抽滤方案

用户自备仪器：

- ✓ 真空抽滤盒 (Cat# VAC-08)
- ✓ 真空抽滤泵

1. 按照以下步骤准备好样品：

1. 第 2-3 页 “二甲苯处理方案” 的步骤 1-10
2. 第 4 页 “加热除蜡方案” 的步骤 1-7

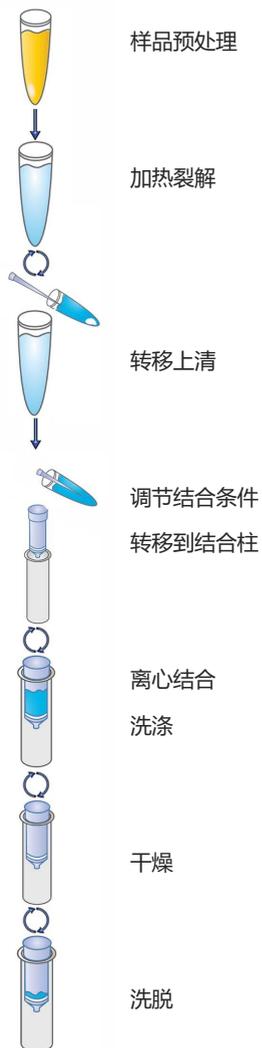
2. 按英文使用说明准备好真空抽滤器，把 MicroElute[®] DNA Mini Columns 连接到抽滤器；

可选柱平衡处理：

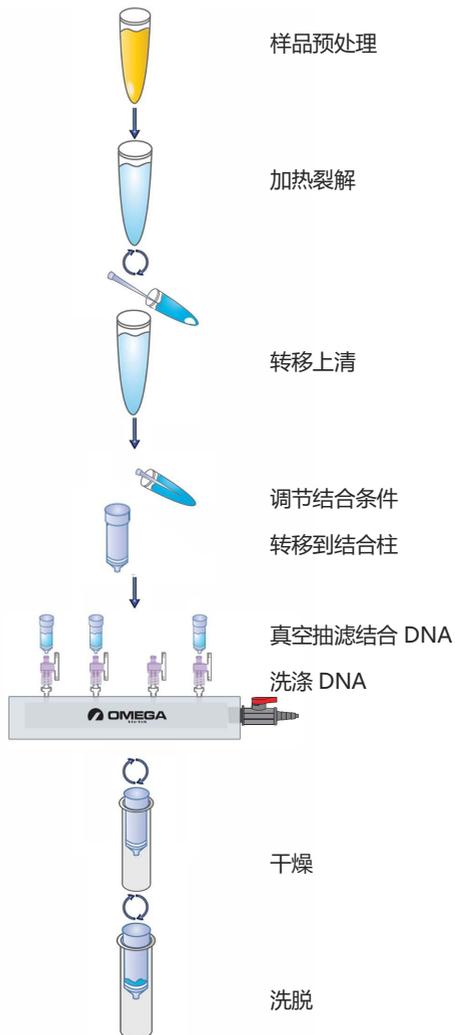
- 1) 往空 MicroElute[®] DNA Mini Columns 内加入 100 μ L 3M NaOH；
 - 2) 用真空抽滤让 NaOH 通过结合柱。
- #### 3. 转移裂解结合液到 MicroElute[®] DNA Mini Columns 中，用真空抽滤让裂解液通过结合柱；
- #### 4. 加 500 μ L HBC Buffer（已加异丙醇正确稀释）到 MicroElute[®] DNA Mini Columns，抽滤让液体流过结合柱；
- #### 5. 洗涤结合柱：加 700 μ L DNA Wash Buffer（已加无水乙醇正确稀释），抽滤；
- #### 6. 重复步骤 5，进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
- #### 7. 弃去滤液，把 MicroElute[®] DNA Mini Columns 重新装回收集管，最大速度离心空柱 2min 以甩干结合柱基质；
- #### 8. 把 MicroElute[®] DNA Mini Columns 装在干净的 1.5mL 离心管上，加入 30-75 μ L 70 $^{\circ}$ C 预热的 Elution Buffer 到结合柱基质中，室温静置 3min，10,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA；
- #### 9. 将洗脱的 DNA 保存在 -20 $^{\circ}$ C。

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程



★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: **omegabiotek.com.cn**

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取



售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。