**新型石蜡切片基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2612**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于快速从石蜡包埋组织中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合DNA，并最大限度去除石蜡包埋组织中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1小时内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2612（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 裂解液LT | 30 ml |
| 缓冲液QK | 10 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 吸附柱C2（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）

**■ 自备试剂**：

无水乙醇，异丙醇。

**■ 注意事项：**

1． 拿到样品后要尽快在4-10%的福尔马林中固定，固定时间以8-24小时为宜，时间过长导致基因组断裂，影响下游实验。
2． 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制PCR检测酶的作用。
3． 本产品所提DNA的完整性依赖于样本类型、储存时间以及固定条件。如果甲醛固定时间过长或样本存放时间过久(＞1年）则易导致DNA完整性受损，无法扩出长片段。
4． 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇。

**■ 操作步骤：**

1． 样本处理

a. 石蜡切片：取石蜡切片（5-10 µm厚，1×1 cm2大小）5-8张。

b. 石蜡块： 手术刀刮取约30 mg的组织样本（尽量去除多余的石蜡）。

c. 福尔马林等固定液中的样本： 取30 mg样本，用手术刀切为数块，置于1.5 ml离心管中，加入500 µl PBS (pH7.4)涡旋振荡混匀12,000 rpm室温离心1 min,弃上清，重复3次。

2． 将样本装于1.5 ml无菌离心管中，加入500 µl裂解液LT。

3． 将装有样品的离心管置于水浴锅中，100℃孵育20-30 min，期间颠倒混匀几次，直至样品完全溶解。

4． 加入150 µl缓冲液QK，震荡混匀，12,000 rpm离心5 min，转移上清至新的1.5 ml离心管。

5． 加入2倍体积的异丙醇，充分混匀。

6． 柱平衡：向吸附柱C2中加入500 µl平衡液LB，12,000 rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。

7． 将混匀的液体转入吸附柱C2中，12,000 rpm离心30 sec，弃掉废液。（吸附柱容积约为800 µl左右，可分次加入离心。）

8． 向吸附柱C2中加入600 µl漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱C2放入收集管中。

9． 重复操作步骤8。

10．空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇。

**注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

11．将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100 µl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤（11）可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**