



ELK Biotechnology
For research use only.

FFPE DNA Extraction Kit 石蜡组织 DNA 提取试剂盒使用说明书

货号	规格	储藏/有效期
EP016-50T	50T	室温/2 年

产品介绍

本产品适合从 3~8 片 (面积小于 250 mm²) 10 μm 的组织切片中分离纯化总 DNA (包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA)。被溶解的动物组织经特异性 DNA 分离提取液 消化聚集后, 通过特异性 DNA 吸附柱, 将 DNA 吸附到纯化柱上, 降解的蛋白与 PCR 抑制物则通过特异性洗涤液去除, 最终的 DNA 产物用 Buffer TE 洗脱, 即可用于 PCR、测序、酶切等多种分子生物学实验。

试剂盒组成

成分	EP016-50T	Storage
Proteinase K	1.2 ml	-20 °C
Buffer GA1	15 ml	RT
Buffer GA2	12 ml	RT
Buffer RP	28 ml	RT
Buffer WB	32 ml	RT
Buffer TE	12 ml	RT
吸附柱 G 柱	50 套	RT
说明书	1 份	RT

一、用户需自备的试剂与物品

1. 二甲苯、无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)
5. 水浴锅和旋涡振荡器
6. 陈旧的石蜡组织样本, 可能需要 Carrier RNA



ELK Biotechnology

For research use only.

二、使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 将水浴锅温度设置到 56°C和 90°C，将 Buffer GA1 和 Buffer TE 温育至 56°C。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer RP 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

重要注意事项：

4. 蛋白酶 K 贮存液请置于 - 20°C储存。
5. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30°C) ，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上 (2~8°C储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用)

二、 操作步骤

1. 用手术刀切除石蜡组织标本上多余的石蜡块，将组织块切成 5~10 μm 的薄片。

*** 如果组织表面暴露在空气中，弃表面的 2-3 层薄片。**

2. 立即收集 3~8 片组织切片装入一个 1.5 ml 离心管中，加入 1 ml 二甲苯，盖上管盖，剧烈地旋涡振荡 10 秒钟溶解石蜡。

3. 13000 rpm 离心 2 分钟。吸弃上清，保留管底沉淀。

4. 加入 1 ml 无水乙醇，旋涡振荡数秒悬浮沉淀，13000 rpm 离心 2 分钟。

*** 乙醇将洗去残留的二甲苯。**

5. 吸弃上清，保留管底沉淀。开盖室温放置 10 分钟或直至乙醇挥发干净。

6. 加入 180 μl Buffer GA1 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液，旋涡振荡混匀。

7. 56°C水浴 1 小时（或者水浴直至组织完全溶解），期间旋涡振荡数次帮助组织溶解。

*** 如果水浴后仍有少量不溶物存在，可将 1.5 ml 离心管在 12000 rpm 离心 1 分钟，吸取上清液转移到另一个洁净的 1.5 ml 离心管中，再按步骤 8 操作。**

8. 90°C水浴 1 小时。

*** 此步骤是为了部分复性一些被甲醛变性的核酸。**

*** 如果只有一个水浴锅，请将离心管取出室温放置，待水浴锅升至 90°C再将离心管放入进行水浴。**

9. 加入 200 μl Buffer GA2 和 200 μl 无水乙醇，温和地翻转 4~6 次混合均匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。

*** 如果从陈旧的石蜡组织块中提取 DNA，请在此步骤再加入 3 μl Carrier RNA(需额外购买) ,陈旧的石蜡组织样本中的 DNA 降解非常严重，含量很低，必须在 Carrier RNA 的协助下才能有效地吸附到纯化柱上。**

10. 吸取混合液到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

*** 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。**



ELK Biotechnology

For research use only.

11. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer RP，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer RP 中已经加入无水乙醇。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

12. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

13. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

14. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱中加入 60~100 μ l 56°C温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免 1.5 ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。

15. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。

三、DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA、40 μ g/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

五、常见问题及解答

A、基因组提取率低:

建议：延长消化时间,增加样本用量等。

B、试剂中有沉淀未溶解

建议：部分试剂在温度较低时会出现沉淀，使用前请检查是否有沉淀生成，如有沉淀生成，请置于 37 °C 温育片刻，待溶液澄清后使用。

C、Wash Buffer 中未按要求加入乙醇



ELK Biotechnology

For research use only.

建议：按照说明书要求加入要求量的无水乙醇，使用后旋紧瓶盖，防止乙醇挥发。

D、溶解体积及时间的选择

建议：溶解体积将会影响最终的收获量，溶解体积越大，收获量越高，但是浓度将会降低。请使用试剂盒推荐的溶解体积进行溶解，以保证最好的收获量和浓度。建议：加入 Buffer TE 后，室温放置 2~5 min，更有利于溶解。