

组织基因组 DNA 提取试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称：组织基因组 DNA 提取试剂盒

【包装规格】

50 次提取/盒

【预期用途】

本试剂盒用于组织基因组 DNA 的提取。

经纯化的 DNA 可以直接用于 PCR、Real-time PCR、SNP 基因分型、STR 基因分型和药物基因组学研究等。

【原理】

本试剂盒利用先进的硅胶膜技术和简单的离心程序可以简单快速地从福尔马林固定、石蜡包埋的组织中有效分离得到高纯度 DNA。DNA 特异性结合到硅胶膜上，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步有效的洗涤步骤去除，最后用低盐缓冲液或水洗脱下来的纯化 DNA 可以直接用于 PCR、Real-time PCR、SNP 基因分型、STR 基因分型和药物基因组学研究等下游操作。

【主要组成成分】

名称	规格
Buffer GTL	15 mL
Buffer GL	15 mL
Buffer GW1 (concentrate)	19 mL
Buffer GW2 (concentrate)	13 mL
Buffer GE	15 mL
Proteinase K	25mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25mL
Spin Column DS	50 个
T1 离心管	50 个
T2 离心管	50 个

【储存条件及有效期】

储存条件：室温（15°C-25°C）

有效期：12 个月

生产日期、有效期见包装标签。

【样本要求】

本试剂盒所有样本为组织石蜡切片及经福尔马林固定的组织样本，获得组织样本后，要尽快将样本在 4%-10%的福尔马林中固定，固定时间以 14-24 小时为宜，时间过长易导致基因组断裂，影响下游实验。

确保包埋前的样本彻底脱水，残留的福尔马林会抑制 Proteinase K 的作用。

【实验前准备及重要注意事项】

1. 向 Proteinase K 中加入 1.25 mL Proteinase K Storage Buffer 使其溶解， $-20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 所有离心步骤均应使用台式离心机，在室温下进行离心。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。
4. 使用前请先检查 Buffer GTL 和 Buffer GL 是否出现浑浊，如有浑浊现象，可在 56°C 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
5. 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，可以在加入 Buffer GL 前加入 $4 \mu\text{L}$ DNase-free 的 RNase A (100 mg/mL)，RNase A 本试剂盒并未提供，如需要可单独订购。

【操作步骤】

1. 样本处理：
 - 1a. 石蜡包埋样本：用手术刀将组织块中多余的石蜡修剪掉，露出组织。
 - 1b. 福尔马林固定液中的样本：取约 20mg 的样本，切成小块，置于离心管中，加入 $500 \mu\text{L}$ 10mM PBS(pH7.4)，涡旋振荡，12,000rpm 离心 1 分钟，重复 3 次，可直接进行第 7 步操作。
2. 将组织块切成 $5\text{-}10 \mu\text{m}$ 的薄片。

注意：如果样品表面已经暴露在空气中，请将接触空气的 2-3 片弃掉不用。
3. 取约 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 的切片（共约 4-5 片切片）置于离心管（自备）中，加入 1mL 二甲苯，盖紧管盖，涡旋振荡 10 秒。
4. 12,000rpm 离心 2 分钟，小心吸弃上清，注意不要吸弃沉淀。
5. 加入 1mL 无水乙醇，涡旋振荡混匀。12,000rpm 离心 2 分钟，弃上清，注意不要吸弃沉淀。

注意：乙醇可以除去样品中残余的二甲苯。
6. 打开管盖，室温或最高至 37°C 孵育 10 分钟，直至无乙醇残留。

7. 加入 180 μL Buffer GTL，重悬沉淀；加入 20 μL Proteinase K，涡旋振荡混匀。
8. 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 小时，直到样品完全溶解。90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 小时。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

注意：1) 此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育的温度过高或时间过长可能造成 DNA 断裂，产生 DNA 碎片。

2) 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育后的样品可置于室温，直至水浴锅或干浴锅的温度到达 90 $^{\circ}\text{C}$ 后再把样品置于 90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育。

3) 如需除去 RNA，可将样品温度降到室温后，加入 4 μL 浓度为 100mg/mL 的 RNase A 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 分钟。

9. 加入 200 μL Buffer GL，涡旋振荡彻底混匀。加入 200 μL 无水乙醇，涡旋振荡彻底混匀。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

注意：1) 加入 Buffer GL 和无水乙醇后要立即充分混匀。

2) 如果需要对多个样品进行操作，可以将 Buffer GL 和无水乙醇事先混匀后加样。

注意：乙醇可以除去样品中的二甲苯。

10. 上一步所得溶液全部加入 Spin Column DS 中（Spin Column DS 已放入 T1 离心管中），如不能一次将所有溶液转入，可分两次进行 12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉 T1 离心管中的废液，将 Spin Column DS 重新放回 T1 离心管中。

11. 向 Spin Column DS 中加入 500 μL Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉 T1 离心管中的废液。将 Spin Column DS 重新放回 T1 离心管中。

12. 向 Spin Column DS 中加入 500 μL Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉 T1 离心管中的废液。将 Spin Column DS 重新放回 T1 离心管中。重复一次。

13. 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒掉 T1 离心管中的废液。将 Spin Column DS 置于室温数分钟以彻底晾干。

注意：这一步目的是将 Spin Column DS 中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR 等）。

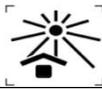
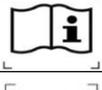
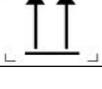
14. 将 Spin Column DS 放到一个新 T2 离心管中，加入 50-200 μL Buffer GE，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液，-20 $^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 保存 DNA。

注意：1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) 离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。

- 3) 用另外的 50-200 μ L Buffer GE 或灭菌水再次洗脱可以增加产量。
- 4) 如果要提高 DNA 的终浓度，可以将步骤 14 所得的 DNA 洗脱液重新加至 Spin Column DS 上，重复步骤 14；若洗脱体积小于 200 μ L，可以增加 DNA 的终浓度，但可能会减少总产量。如果 DNA 的量小于 1 μ g，推荐用 50 μ L Buffer GE 或灭菌水洗脱。
- 5) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用 Buffer GE 洗脱并于-20 $^{\circ}$ C \pm 5 $^{\circ}$ C 保存。

【标识的解释】

图形符号	符号标题	符号说明
	怕晒	表示医疗器械需要避开光源
	怕雨	表示医疗器械需要避免潮湿，保持干燥
	体外诊断医疗器械	表示医疗器械为体外诊断医疗器械
	查阅使用说明	表示用户需要查阅使用说明
	向上	表明该运输包装件在运输时应竖直向上

【基本信息】

备案人/生产企业名称：嘉兴允英医学检验有限公司

住所：浙江省嘉兴市南湖区大桥镇汇信路 153 号研发车间楼第三层

生产地址：浙江省嘉兴市南湖区大桥镇凌公塘路 3556 号 5 号楼-2

联系电话：0573-83108883

售后服务单位名称：嘉兴允英医学检验有限公司

住所：浙江省嘉兴市南湖区大桥镇汇信路 153 号研发车间楼第三层

联系方式：0573-83108883

生产备案凭证编号：浙嘉药监械生产备 20160011 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

浙嘉械备 20160043 号

【说明书核准日期及修订日期】

核准日期：2016 年 10 月 25 日

修订日期：2023 年 04 月 26 日