

石蜡包埋组织核酸提取试剂盒说明书



产品名称

石蜡包埋组织核酸提取试剂盒（磁珠法）说明书

规格型号

货号：GF3148-LM

规格：48 次/盒

提取原理

本试剂盒适用于从石蜡包埋组织和石蜡组织切片提取核酸，该方法采用超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，操作简单方便，得到的产物可直接用于 PCR、荧光定量 PCR、芯片分析、一代、二代测序等相关实验。

主要组成成分

产品组分	规格：48T/盒
蛋白酶 K	0.96 mL
脱蜡液	48 mL
裂解液	14.4 mL
磁珠	0.96 mL
裂解结合液	28.8 mL
洗涤液 1	67.2 mL
洗涤液 2	67.2 mL
洗脱液	4.8 mL

适配仪器

手提

储存条件及有效期

室温（15~25℃）保存，有效期为 12 个月。

蛋白酶 K：短期在室温保存，长期则保存在-20~8℃环境中。

注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有刺激性的胍盐，务必戴上手套，并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如因气温较低，溶液出现沉淀，需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如因气温较低，裂解液出现沉淀，可 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。
4. 如因气温较低，用力振荡后磁珠无法重悬，请勿使用。
5. 若收集的洗脱液浑浊，可能是由于脱蜡步骤未脱蜡彻底，可将含核酸的洗脱液在室温下 13,000×g 离心 3 分钟，再用移液器抽取离心管中清澈液体部分即可。
6. 在某些情况下，洗脱液中可能会有一些磁珠的痕迹。这些颗粒不会干扰标准 PCR 和大多数下游应用，但可能增加紫外线测量的背景或可能影响实时 PCR，建议使用适当的磁力架或离心执行额外的分离步骤，以去除磁珠。

■ 样本要求

1. 适用标本类型：石蜡包埋组织及石蜡组织切片。
2. 标本保存和运输：标本可立即用于测试，也可以密封保存于阴凉处，保存期为 2 年。标本运输采用常温运输。

■ 检验方法

1. 试剂准备

实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

2. 操作步骤

- 2.1. 使用刻刀修整石蜡组织上周围多余的石蜡。根据组织大小不同，切取 10 μm 厚的石蜡组织切片 4~10 张至 1.5 mL 离心管中。
- 2.2. 加入 1mL 脱蜡液，高速涡旋震荡 20 秒。使用离心机短暂离心，让样本浸泡到缓冲液中。

2.3. 55℃温浴 5 分钟，高速涡旋 20 秒左右。

2.4. 13,000×g 室温离心 2 分钟，彻底吸弃上清液，不要吸到沉淀。

注意：如样本含蜡量高，可重复脱蜡步骤 2.2~2.4。

2.5. 加入 1 mL 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒，13,000×g 离心 2 分钟，彻底吸弃上清液，不要吸到沉淀，开盖室温晾干 5~10 分钟使乙醇充分挥发。

2.6. 往沉淀中加入 20 μL 蛋白酶 K、300 μL 裂解液，高速涡旋混匀 20~30 秒，55℃振荡温浴 60 分钟，如恒温仪无振荡功能，可每 15 分钟涡旋一次促进样本消化，每次 10~30 秒。

2.7. 90℃温浴 60 分钟。如有未消化完的样本，可用掌上离心机瞬时离心 30 秒。

2.8. 将 2.7 步骤温浴产物恢复室温后，将溶液转至新的离心管中（避免吸到未消化固体）。

2.9. 加入 600 μL 裂解结合液，20 μL 磁珠，涡旋或振荡 5~7 分钟使磁珠吸附核酸。

2.10. 转移至磁力架上静置 2 分钟，吸弃溶液。

2.11. 加入 700 μL 洗涤液 1，涡旋 10 秒打散磁珠后转移至磁力架上静置，待溶液澄清后吸弃上清。

2.12. 再次加入 700 μL 洗涤液 1，涡旋 10 秒打散磁珠后转移至磁力架上静置，待溶液澄清后吸弃上清。

2.13. 加入 700 μL 洗涤液 2，涡旋 10 秒打散磁珠后转移至磁力架上静置，待溶液澄清后吸弃上清。

2.14. 再次加入 700 μL 洗涤液 2，涡旋 10 秒打散磁珠后转移至磁力架上静置，待溶液澄清后吸弃上清。

2.15. 瞬时离心后转移至磁力架上静置，充分吸弃所有溶液，打开管盖，空气中干燥 3~5 分钟或 65℃干式恒温仪中干燥 2 分钟。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。

2.16. 加入 50~100 μL 洗脱液，涡旋 2~3 分钟打散磁珠。

2.17. 65℃振荡温浴 5 分钟（可适当延长温浴时间增加洗脱效率），如恒温仪无振荡功能，可在温浴期间取出，高速涡旋打散磁珠 2~3 次，每次 10~30 秒。

2.18. 温浴完成后，掌上离心机瞬时离心，再转移至磁力架上静置，把核酸溶液转移至新的离心管中。如果不立即使用，请存储于-15~-25℃，长期保存请放置于-70℃或更低的温度。

2.19. 如果产物直接做下游实验，如只需 DNA，加入 10 μL RNase A，室温消化 10~15 分钟。

2.20. 如果产物直接做下游实验，如只需 RNA，按照以下步骤操作：

1) 在 RNase-free 反应管中按照下表比例配置反应液：

以 10 μL 体系为例

组分	加入量
RNA	X μg
10X DNase I Buffer	1 μL
DNase I, RNase-free (5U/μL)	1 U per μg RNA*
ddH ₂ O	Up to 10 μL

* 注：根据 RNA 量，计算需要加入的 DNase I 体积。

2) 37℃ 孵育 15 min。

加入 1 μL 10X Stop Buffer 终止反应，65℃加热 10 分钟使 DNaseI 失活，样本可直接进行下一步反转录实验。

基本信息

生产企业名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产企业住所：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋
联系方式：0312-5031216
售后服务单位名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产地址：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋

说明书核准及修改日期

核准日期 2024 年 07 月 08 日