

Biomiga 石蜡包埋组织基因组 DNA 提取 SOP

浙杭械备 20200107

使用产品：石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）（货号：BW-MGD2212）

适配 Allsheng Auto-Pure 96

Kit Contents (预装版)

Catalog#	BW-MGD2212-A96-10	BW-MGD2212-A96-11	BW-MGD2212-A96-12
Preps	1 x 96	4 x 96	10 x 96
FFPE Beads	10 µL	10 µL	10 µL
FFPE A	12 mL	46 mL	115 mL
Buffer TL	55 mL	210 mL	530 mL
Buffer FBL	200 µL	200 µL	200 µL
Buffer MKB	600 µL	600 µL	600 µL
DNA Wash Buffer	2 x 600 µL	2 x 600 µL	2 x 600 µL
Buffer MEB	100 µL	100 µL	100 µL
Proteinase K	2.2 mL	8.8 mL	22 mL
96 孔磁棒套	1	4	10
User Manual	1	1	1

注：FFPE A, Buffer TL, Proteinase K 为瓶装试剂总剂量，其余上述试剂均为单孔试剂量。其中 FFPE Beads 置于 DNA Wash Buffer 中。

实验前准备工作：

1. 自动化提取仪：使用前可进行紫外消毒。
2. Buffer 检查：使用前请检查 Buffer 是否有沉淀，若有沉淀产生，请于 37℃加热溶解。
3. Buffer FBL（仅限瓶装版）：使用前确保在 Buffer FBL 中加入对应比例 L solution，Buffer FBL : L solution = 100:1，且加入 L solution 后必须保存在 4℃，一个月内使用完。（请根据使用量按比例配比）。
4. DNA Wash Buffer 制备（仅限瓶装版）：首次开封使用时，按照瓶身标签所示，向 DNA Wash Buffer 中加入对应无水乙醇并混匀。
5. 自备异丙醇：实验过程中需使用异丙醇；提前打开金属浴或水浴锅，设置 98℃。
6. 材料准备
7. 石蜡切片：取 3-5 片石蜡组织切片（每块切片的厚度在 5-10 μm ，表面积为 $1 \times 1 \text{ cm}^2$ ，最多可达 15 mg）。

一、 样本预处理

1. 样本裂解
2. 取适量样本加入 1.5-2 mL 离心管中，加入 100 μL FFPE A 和 500 μL Buffer TL，涡旋混匀。
3. 98℃孵育 30-60 min，期间颠倒混匀 3 次，直至样品完全溶解。
4. 注：该步骤在水浴时会出现管子爆开的声音，请戴上防护镜，注意安全。水浴时请用长镊子操作。
5. 水浴过后，立即离心。12,000 rpm 常温离心 5 min。
6. 使用 200 μL 枪头沿管壁小心吸取中间层的水相清液（上层是石蜡及蛋白混合物，下层为少许杂质沉淀，如果分层不彻底可以延长离心时间，直到上层混合物和水相清液很好的分开）。
7. **快速法：**直接将中间层的液体转移至 96 孔深孔板内进行自动化处理。
8. **Proteinase 法：**
9. 将中间层的液体转移至新的离心管中，加入 20 μL Proteinase K（使用前涡旋混匀），混匀，55℃水浴 10 min。
10. 将处理后的液体转移至 96 孔深孔板内进行自动化处理。

二、 自动化处理

1. 取 96 孔深孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至板中，若为盒装试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注：每一孔的总体积不能超过 1000 μL ，否则可能溢出。

表 1.96 孔板设置

96 孔板编号	对应仪器板位	样本/试剂	体 积 (μL)	预分装版试剂盒说明	试剂说明
Bind	4	样本预处理液	400	需用户自行加入	该板中加入的先后顺序为 Buffer FBL、样本、异丙醇。Buffer FBL 若有结晶，则需温浴使结晶复溶后再使用。
		Buffer FBL	200	已分装，无需用户自行加入	
		异丙醇	400	需用户自行加入	
Wash 1	5	Buffer MKB	600	已分装，无需用户自行加入	
Wash 2	6	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
		磁棒套	-	-	-
Wash 3	7	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	注：FFPE Beads 在使用前需涡旋混匀 1 min，充分混匀磁珠，以确保加入各实验管时无差异
		FFPE Beads	10	已分装，无需用户自行加入	
Elution	8	Buffer MEB	100	已分装，无需用户自行加入	洗脱体积可根据具体要求调整。至少加入 60 μL Buffer MEB 进行洗脱。

2. 启动仪器，将装有样品和试剂的 5 块板安放至仪器中对应的 4-8 号板位上。
3. 执行程序（表 2）。
4. 待程序完成后收集产物：取出 96 孔板，吸取名称为 Elution 板内的提取产物至无菌的 EP 管中，检测后于 -20℃ 或 -80℃ 保存。

表 2. 提取程序

步骤	名称	板位	混合时间 (min)	混合幅度 (%)	等待时间 (min)	容积 (μL)	混合速度 (1-10)	温度 (°C)	吸磁段数 (0-5)	循环次数 (1-10)	吸磁速度 (1-10)	第一段吸磁时间 (s)	第二段吸磁时间 (s)	第三段吸磁时间 (s)	第四段吸磁时间 (s)	第五段吸磁时间 (s)	液面停留 (0-30s)
1	Load	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Xici	7	0.5	80	0	600	8	OFF	1	2	1	5	-	-	-	-	0
4	Binding1	4	1	30	0	1000	10	OFF	0	1	-	-	-	-	-	-	0
5	Binding2	4	2	80	0	1000	1	OFF	5	1	1	20	20	15	15	1	0
6	Wash1	5	1	30	0	600	8	OFF	1	4	1	1	-	-	-	-	0
7	Wash2	6	1	30	0	600	8	OFF	1	3	1	1	-	-	-	-	0
8	Wash3	7	1	30	0	600	8	OFF	1	5	1	1	-	-	-	-	0
9	Elute1	8	1	80	0	100	10	70	0	1	-	-	-	-	-	-	0
10	Elute2	8	4	80	0	100	3	70	2	5	1	15	15	-	-	-	10
11	Unload	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：设置为先升温后动作；降温风扇关闭，降温动作同步。

购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站 www.biomiga.com.cn