## 石蜡不脱蜡的步骤 (手工, 封盖消化)

- 1. 转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中, 14000xg 离心 1 分钟或用镊子挤碎卷条落在离心管底部。
- 2. 加入 200~250ul Buffer ATL 和 20ul Proteinase 至样品中,65 度 800rpm 振荡 1-2 小时或过夜。 现象:65 度温育 5-10 分钟时,石蜡会溶化液体,并自动飘浮到溶液表面,这一步振荡温育不要太高,以免 ATL/液化的石蜡 在高速振荡时,产生乳化现象,稀释消化液和 PK 的浓度。
- 3. 90 度温育 1 小时。【若 65 度温育过夜,可以省略这一步。】
- 4. 14000xg 离心 1-3 分钟, 离心后, 石蜡会重新凝固在溶液的表面。
- 5. 用移液枪头拨开或穿过石蜡,取下层的消化液进行操作。

## 石蜡不脱蜡的步骤(自动化,开盖消化)

- 1. 转移石蜡切片至 1.5ml 离心管中, 14000xg 离心 1 分钟或用镊子挤碎卷条落在离心管底部。
- 2. 加入 200~250ul Buffer ATL 和 20ul Proteinase 至样品中。
- 3. 加入 200-300ul 矿物油, 65 度 800rpm 振荡 1-2 小时或过夜。 现象: 65 度温育 5-10 分钟时, 石蜡会溶化液体, 并自动飘浮到溶液表面, 这一步振荡温育不要太高, 以免 ATL/液化的石蜡在高速振荡时, 产生乳化现象, 稀释消化液和 PK 的浓度。 加入矿物油的目的: 形成更层的油封层, 减少开盖消化时, 消化的蒸发。
- 4. 90 度温育 1 小时。【若 65 度温育过夜,可以省略这一步。】
- 5. 保持消化液温育在 65-70 度, 防止油封层凝固, 用自动化移液枪头插到最底部, 静置 20 秒, 小心吸取下层的消化液进行操作。