

操作手册

FFPE DNA 提取试剂盒

Catalog No. TD367-50 (50 次反应)

Highlights

- 可从 FFPE 样品中提取到高质量的 DNA，提取到的 DNA 可应用于 PCR、高通量测序等实验。
- 独特的片段选择技术：可获得大于 50bp 的 DNA 或 500bp 的 DNA。

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
蛋白酶 K 及保存液	-20℃	2x5 mg
RNase A	4℃	2 mg
脱蜡液	室温	20 ml
2X 消化液	室温	5 ml
基因组 DNA 裂解液	室温	50 ml
FFPE DNA 洗涤液 1	室温	25 ml
FFPE DNA 洗涤液 2	室温	12 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml
2 号柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

环境温度低时裂解液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

特性:

- **样品大小:** 封闭在石蜡中的最多 25mg 组织或者表面积~20mm² 最多 4 张组织切片(厚度≤20 μm)，首次使用推荐使用 1-2 张切片。兼容新鲜或者冷冻的组织。
- **DNA 回收率:** 每个离心柱最大的结合能力是 25μg。
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR,高通量测序等各种分子生物学实验。

一般情况 $Abs_{260/280} \geq 1.8$

- **处理时间:** 一般整个流程需要 4 个小时，对于高质量的 DNA 和最大的产量，建议采用过夜消化。
- **需要的仪器设备/试剂:** 水浴锅或者金属浴（55℃和 90℃），微型离心机，异丙醇。

试剂制备:

在操作之前，需添加260µl蛋白酶K保存液到每管蛋白酶K（5mg）中。蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20℃长期保存。

添加48ml 100%乙醇（或52ml 95%乙醇）到12ml的 **FFPE DNA洗涤液 2**中。

添加300µl的去离子水到**RNase A**中，需要放到4℃长期保存。

提取步骤:

脱蜡

1. 尽可能多的从组织上去除石蜡，然后将样品放置到一个 1.5ml 离心管内。

最多处理 25mg 石蜡块中的组织或者最多 4 个组织切片（总表面积 20mm²）建议处理 1-2 个切片

2. 添加 400µl 的脱蜡液到样品中。在 55℃下孵育 1 分钟，短暂涡旋。

3. 去除脱蜡液然后处理下一个切片

组织消化

1. 针对离心管中去除了脱蜡液的组织样品（≤25mg），添加以下混合物：

H ₂ O	45µl
2X 消化液	45µl
蛋白酶K	10µl

2.

快速消化流程	标准消化流程
在 55℃下孵育 1-4 个小时	在 55℃下过夜孵育（12-16 小时）

针对较大的组织推荐使用标准消化流程

3. 将温度调到 94℃并且孵育 20 分钟。一旦完成之后，添加 5µl 的 RNase A 混匀。在室温下额外孵育 5 分钟。

DNA纯化

1. 添加 350 μ l 的基因组 DNA 裂解液到离心管中，涡旋混匀。
2. 添加 135 μ l 的异丙醇到样品中并且混匀。在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。去除不溶物。
3. 将上清转移至 2 号柱中，2 号柱套在一个收集管里，在 $\geq 10,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。
4. 添加 400 μ l 的 FFPE DNA 洗涤液 1 到 2 号柱中，2 号柱套在一个新的收集管里。
5. 添加 700 μ l 的 FFPE DNA 洗涤液 2 到 2 号柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。
6. 添加 200 μ l 的 FFPE DNA 洗涤液 2 到 2 号柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。
7. 将 2 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好，如果是 25mg 的组织可以添加 $\geq 100\mu$ l），室温下放置 2-5 分钟。
8. 全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。