简石生物
GENSTONE BIOTECH

操作手册

FFPE 样品 DNA 提取试剂盒 （磁珠法）

Catalog No. TB367-48

Highlights

- 可从 FFPE，固体组织，头发等复杂来源的样品中提取到高纯度的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等敏感的分子生物学实验。

Ver.1.2.5

产品组成:

试剂盒组成	保存	48 次
蛋白酶 K 溶液	-20℃	1ml
脱蜡液	室温	10 ml
2X 消化液	室温	12 ml
磁珠结合液	室温	20 ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	25 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	100 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml
磁珠	室温	2ml

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。

环境温度低时基因组固体组织消化液或者基因组 DNA 洗涤液 1 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:

- **样品种类:** FFPE，固体组织，毛发，保存在保护剂里的样品等。获得的基因组 DNA 产量高、纯度好， 可以直接应用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:** 一般可回收到大于 50 kb 的基因组 DNA。如果样品中存在线粒体 DNA，病毒 DNA 等也会一起提取到。
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好， 可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

  一般情况 $Abs_{260/230} \geq 1.8$。
- **基因组 DNA 产量:** 每 50µl 磁珠最多可结合 10µg 基因组 DNA。

样品来源:

FFPE 样品：

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 20mm^2）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_2O	95µl
2X 消化液	95µl
蛋白酶K	10µl

2.

快速消化流程	标准消化流程
在 55℃下孵育 1 小时（显微切割）	在 55℃下孵育 4 小时（组织块）

   针对较大的组织推荐使用标准消化流程

3. 消化之后，将温度调到 94℃并且孵育 20 分钟防止交联样品。

在≥ 3,000 x g 的离心力下离心4分钟，然后将上清~200µl 转移到一个干净的96孔板中添加400µl的磁珠结合液。

提取步骤:

纯化环节：

以下步骤的混匀步骤即可以用移液器上下吹打也可以使用专业的震动摇床（rpm1200）.

1. 将混匀的磁珠添加 30μl 到 96 孔的样品孔中。混匀 10-15 分钟。
2. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
3. 添加 500μl 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
4. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
5. 添加 900μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
6. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
7. 添加 900μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
8. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
9. 将 96 孔板自然放置直到磁珠变干（大概 10 分钟）
10. 添加 50-100μl 的基因组 DNA 洗脱液到每个孔中并且重悬磁珠，混匀磁珠 5-10 分钟，然后将 96 孔板移到一个磁力架上，放置 2-3 分钟直到磁珠完全沉淀下来。
11. 将上清（包含基因组 DNA）转到一个干净的 96 孔洗脱板内。