

# FFPE样品DNA/RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.1)

## 产品说明

- ◇ 从FFPE（福尔马林固定的石蜡包埋的）组织切片中提取DNA和总RNA（包括small/microRNA）
  - 。
- ◇ DNA和RNA可以在一个体系中洗脱，或在分开单独洗脱。得到的核酸可用于NGS、RT/qPCR等
  - 。

产品货号：

TR109- 50（50次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
产品描述	2
溶液制备	3
操作步骤	3
(I) 样品前处理	3
(II) DNA/RNA单独纯化步骤	3
(III) 总核酸纯化步骤	4
FAQ常见问题及解决办法	5
其他产品订购信息	5
组件查询	6

## 产品组份

试剂盒组成	50次	保存
蛋白酶K溶液	600 $\mu$ l	-20°C
DNase I	250U	-20°C
脱蜡液	20 ml	室温
2X消化液	5 ml	室温
DNA消化液	4 ml	室温
DNA/RNA裂解液	50 ml	室温
DNA/RNA预洗液	25 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	2X24 ml	室温
无DNase/RNase水	30 ml	室温
2号CR纯化柱	100个	室温
2ml收集管	150个	室温

## 注意事项

- ◇ 筒石生物产品仅供研究使用，应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。售出后一年内产品可质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ◇ RNA提取，防RNase污染:
  1. 更换新手套。皮肤表层附着微生物，可能导致RNase污染。
  2. 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。玻璃器皿可在150°C烘烤4h；塑料器皿可在0.5MNaOH中浸泡10min,用水彻底清洗。灭菌后，即可去除RNase。
  3. 配制溶液应使用无DNase/RNase水。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(v/v),混匀后放置过夜，高压灭菌）

## 产品特性

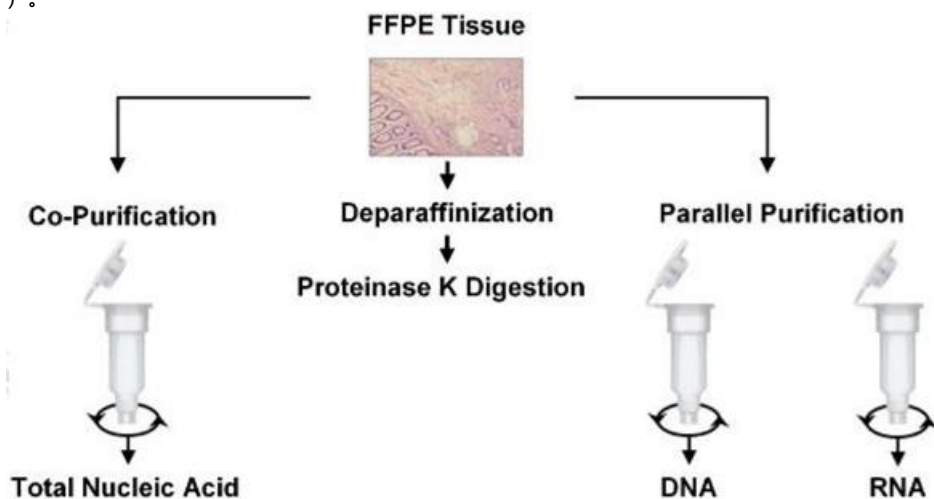
- ◇ 样本来源-从石蜡块中提取的组织可达25mg，或者总表面积约为20mm<sup>2</sup>的4张组织切片（厚度 $\leq$  20 $\mu$ m）。建议：初次进行推荐使用1-2张切片。
- ◇ 兼容性-也可以处理新鲜或冰冻组织标本。
- ◇ 大小-DNA和总RNA ( $\geq$ 17核苷酸)。

- ◇ 纯度-A260/A280和A260/A230>1.8。DNA和RNA适用于下一代测序、RT/qPCR等。
- ◇ 结合能力-2号CR纯化柱可回收最多50μg的DNA/RNA。
- ◇ 洗脱体积≥25μl无DNase/RNase水。
- ◇ 需要的设备（用户提供）-离心机、涡旋仪、加热块、水浴或培养箱

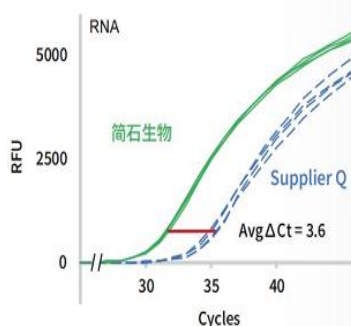
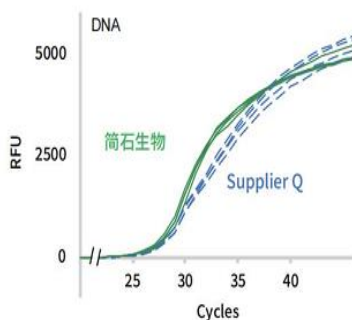
## 产品描述：

FFPE样品DNA/RNA提取试剂盒提供了一种简单可靠的方法，可以从同一份福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）组织样本中，一次洗脱得到总核酸（DNA和RNA），或分两个步骤单独洗脱出DNA/RNA。

只需使用脱蜡液去除石蜡，使用蛋白酶K消化，加热以解除化学交联，然后使用2号CR纯化柱进行纯化。该产品的独特化学配方经过优化，可最大程度地回收DNA以及总RNA(small/microRNA)。



### 1、高回收率



用FFPE DNA/RNA提取试剂盒提取的DNA和RNA质量较高，并优于供应商Q试剂盒（Avg  $\Delta$ CT=3.6）所描述的RT-PCR扩增曲线（n=4）中的RNA。

## 溶液制备：

蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20℃长期保存。但室温可保存12个月（注：如果试剂盒内是溶液状蛋白酶K则无需做此步，溶液蛋白酶K为新配方室温可以放置12个月）添加96ml100%乙醇（或104ml95%乙醇）到24ml的DNA/RNA洗涤液中。添加275μl的无DNase/RNase水到每管的DNaseI中,混匀后DNaseI的浓度为1U/μl。

## 操作步骤：

整个操作步骤是由3个步骤组成：(I) 样品前处理、(II) DNA/RNA单独纯化步骤、(III) 总核酸纯化步骤。

\*所有步骤的离心力均在10,000-16,000xg下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温下（20-30℃）下操作除非特殊说明。

### (I) 样品前处理

#### 脱蜡

1. 尽可能多的从组织上去除石蜡，然后将样品放置到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<sup>2</sup>）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：

无 DNase/RNase 水	95μl
2X 消化液	95μl
蛋白酶 K	10μl

2. 在55℃下，孵育1小时（显微切割）或孵育4小时（组织块）。  
注：针对较大的组织推荐使用4小时消化。
3. 消化之后，将温度调到94℃并且孵育20分钟防止交联样品。
4. 以下步骤是针对DNA提取，RNA提取，DNA和RNA共同提取的三种不同体系。

### (II) DNA/RNA单独纯化步骤

\*所有步骤的离心力均在10,000-16,000xg下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温下（20-30℃）下操作除非特殊说明。

1. 添加600μl的DNA/RNA裂解液到脱蜡和消化后的组织中，混匀。最大速离心1分钟去除不溶物。
2. 将上清转移至2号CR纯化柱中，2号CR纯化柱套在一个收集管里，离心。保存滤出液。

DNA纯化步骤 (DNA结合在纯化柱上)	RNA纯化步骤 (RNA在滤出液中)
3.将2号CR纯化柱套在一个新的收集管内。	3.添加1体积的(95-100%)无水乙醇到上述滤出液中混匀,将混合物移至一个新的2号CR中,2号CR纯化柱套在一个新的收集管中,离心,去除滤出液。此时RNA已经结合到纯化柱上,并且可以采用柱上消化的方式进行DNaseI消化(见附录)。

4. 添加400μl的DNA/RNA预洗液到2号CR纯化柱中,离心,去除滤出液。
5. 添加700μl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中,离心,去除滤出液。
6. 添加400μl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中,离心2分钟去除洗涤液残留。
7. 将2号CR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加≥50μl的无DNase/RNase水到纯化柱基质上,室温下放置1-2分钟。离心,洗脱DNA或RNA。

#### 附录:柱上DNaseI消化处理:

此步骤主要是为了去除痕量的DNA。

- a) 添加400μl的DNA/RNA洗涤液到纯化柱上,离心。去除滤出液。
- b) 对于每一次的样品处理需要制备80μl的DNaseI反应液。配比为DNaseI 5μl, DNA消化液75μl。
- c) 直接添加80μl的DNaseI反应液到纯化柱上,在室温下(20-30°C)孵育15分钟。然后进行第4步继续处理后面的步骤。

#### (III) 总核酸纯化步骤

\*所有步骤的离心力均在10,000-16,000xg下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温下(20-30°C)下操作除非特殊说明。

1. 添加600μl的DNA/RNA裂解液到脱蜡和消化后的组织中,混匀。最大速离心1分钟去除不溶物。将上清转移到一个新的离心管内。
2. 添加1体积的(95-100%)无水乙醇到样品中混匀。
3. 将混合物移至一个2号CR纯化柱中,2号CR纯化柱套在一个新的收集管中,离心,去除滤出液。
4. 添加400μl的DNA/RNA预洗液到2号CR纯化柱中,离心,去除滤出液。
5. 添加700μl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中,离心,去除滤出液。
6. 添加400μl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中,离心2分钟,去除洗涤液残留。
7. 将2号CR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加≥50μl的无DNase/RNase水到纯化柱基质上,室温下放置1-2分钟。离心,洗脱DNA和RNA。

## FAQ常见问题及解决方法询

Q, 问题	A,可能的原因和推荐的解决方案
否需要DNaseI处理; 溶	1.简石生物提供的DNaseI套件(DNase和DNA消化液)的目录号是

解后的DNaseI如何保存	TE1010; 如果下游应用需要无DNA的RNA, 我们建议柱上做DNaseI处理, 后续洗涤可去除片段化的DNA, 避免浓度虚高。2.冻干DNaseI在室温下比较稳定。液体悬浮后, 可选择冷冻储存(-20°C) 等分试样。尽可能减少冻融循环。冻融会降低酶活性。
如何提高纯度, RIN/DIN值并消除污染? (及A260/230,A260/280比率, DNA,苯酚, 蛋白质, 盐等)	任何类型的污染都可能由初始样品制备(即样品裂解效率低下)引起。需要优化/增加裂解试剂的体积(例如, TRI试剂/TRIzol/TRIcom或DNA/RNA裂解液)。
如何提高核酸产量?	1.FFPE样品保存条件较为特殊, 尤其是RNA的降解程度相对较高。前处理很重要, 确保无蜡片残留, 组织完全裂解, 增加裂解试剂的体积(即增加或滴定TRI试剂/TRIzol/TRIcom或DNA/RNA裂解缓冲液的体积)。2.裂解物应透明(不透明或粘稠)。通过离心(如果需要)沉淀碎片并处理澄清的上清液

## 其他产品订购信息

DNA/RNA保护剂 (EZShied®)		
TR110	DNA/RNA保护剂 (EZShied®) -固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA保护剂 (EZShied®) -液体样品保护剂	瓶
TS001-TS010	各类样品的采样套装 (含RNA保护剂)	套
难以裂解样品- 辅助耗材和设备		
TS6003	植物/动物组织-裂解管 (2.0 mm)	50支/包
TS6012	微生物--裂解管 (0.1 + 0.5 mm)	50支/包
TS6014	组织/昆虫中的微生物--裂解管 (0.1 + 2.0 mm)	50支/包
TI2019	样品研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织DNA提取	1台
T9548R	冷冻研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织RNA提取	1台
TI2023-24	样品均质仪 ("8" 字旋转常温款) -适合微生物DNA	1台
TI2023-24R	冷冻样品均质仪 ("8" 字旋转低温款) -微生物RNA	1台
RNA提取纯化系列		
总RNA快速提取试剂盒 (从TRIzo®裂解物中提取)		
TR199	LS液体样本总RNA提取试剂 (TRIcom Reagent)	50/100ml

TR201	总RNA提取试剂 (TRIcom Reagent)	50/100ml
TR205	少量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TR206	微量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TB210	总RNA提取试剂盒 (配合 TRIzol <sup>®</sup> 磁珠法)	32/96次
少量总RNA提取试剂盒 (任何样品的RNA提取纯化)		
TR150	快速RNA微量提取试剂盒-10	50/200次
TR154	快速RNA少量提取试剂盒-100	50/200次
TR134	病毒RNA提取试剂盒	50/200次
TR202	环境样品通用DNA/RNA提取试剂盒	50次
TR121	全血RNA提取试剂盒 (DNA/RNA保护剂)	50次
TR108	FFPE样品RNA提取试剂盒	50次
TR159	血清血浆cfRNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TR225	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TB226	多糖多酚植物RNA提取试剂盒(磁珠法)	48次
RNA-Seq (RNA建库产品)		
R3000	Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit	12/96次

## 组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶K溶液	TD3001-2-0.6	600 µl	-20°C
DNase I	TE1009-A	250U	-20°C
脱蜡液	TD3067-1-20	20 ml	室温
2X消化液	TD3050-1-5	5 ml	室温
DNA消化液	TE1010-1-4	4 ml	室温
DNA/RNA 裂解液	TD7001-1-50	50 ml	室温
DNA/RNA 预洗液	TD7010-2-25	25 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	TD7010-3-24	24 ml	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-30	30 ml	室温
2号 CR 纯化柱	TC1078-50	50个	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温