

版本号: DP220712

TIANamp FFPE DNA Kit

石蜡包埋组织DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP340

产品内容

产品组成	DP340-02 (50 preps)
环保脱蜡剂 (Deparaffinization Solution)	50 ml
缓冲液GAR (Buffer GAR)	15 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml
Proteinase K	1 ml
RNase-Free 吸附柱CR2 (RNase-Free Spin Columns CR2)	50 个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50 个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-30°C) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用环保脱蜡方式去除石蜡，应用特殊的裂解条件释放组织切片中的DNA，克服了福尔马林交联造成的抑制效应。该试剂盒通过特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，将高品质的DNA纯化至小洗脱体积中。FFPE DNA提取提取的基因组完整性好，纯度高，质量稳定可靠。适用于医学临床检验以及科学研究等方面。

使用本试剂盒提取的FFPE DNA可适用于多种下游应用，如PCR和real-time PCR；SNP基因分析STR基因分析；药物基因组学研究。

产品特点

样本广泛：可从福尔马林固定、石蜡包埋组织，福尔马林等固定液中的组织中分离纯化基因组DNA。

轻松提取：轻松提取纯化高品质，高得率的即用型DNA，结果重复性好。

稳定可靠：彻底去除污染物和PCR抑制剂。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 拿到样品后要尽快在 4-10%的福尔马林中固定，固定时间以8-24 h内为宜，时间过长导致基因组断裂，影响下游实验。
 2. 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制 PCR检测酶的作用。
 3. 本产品适用于医学、科学实验研究。
 4. 本产品所提DNA的完整性依赖于样本类型、储存时间以及固定条件。如果甲醛固定时间过长或样本存放时间过久（>1年）则易导致DNA完整性受损，无法扩出长片段。
 5. 若缓冲液GAR、GB、GD中有沉淀，可在56℃水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 6. 试剂盒中各试剂在使用前应按照说明书要求操作。
-

操作步骤

第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在GD和PW中加入无水乙醇! 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 样本处理

- a. 石蜡切片: 取石蜡切片 (5-10 μm 厚, $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 大小) 5-8张。
- b. 石蜡块: 手术刀刮取约30 mg的组织样本 (尽量去除多余的石蜡)。

注意: 如果样品表面暴露于空气中, 最初刮取的2-3片弃掉不用

- c. 福尔马林等固定液中的样本: 取30 mg样本, 用手术刀切为数块, 置于1.5 ml离心管中, 加入500 μl PBS (10 mM, pH7.4) 涡旋振荡混匀, 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 室温离心1 min, 重复2次, 然后从步骤3开始操作。
 2. 将石蜡切片或石蜡块样本装于1.5 ml无菌离心管中, 加入600 μl 环保脱蜡剂, 剧烈涡旋30 sec (福尔马林固定组织不用加环保脱蜡剂; 如果切片超过10片, 可以增加脱蜡液到1 ml)。
 3. 加入250 μl 缓冲液GAR和20 μl Proteinase K, 充分混匀, 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h, 中间可多次颠倒混匀, 直至样本完全裂解。
 4. 置于90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育0.5 - 1 h, 静置。
 5. 拿出后常温放置5 min, 取下部澄清液放入新的离心管中。
(可选步骤) 如果要去除RNA, 可以将样品中加入2 μl RNase A (100 mg/ml), 室温孵育2 min后, 进行下一步操作。
 6. 在上述新管中加入220 μl 缓冲液GB涡旋混匀, 再加入250 μl 无水乙醇, 涡旋震荡充分混匀, 短暂离心使管壁上的溶液收集到管底。
 7. 将上一步所得的混合液加入一个吸附柱CR2中8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心2 min, 倒掉废液, 重新将吸附柱放回收集管中。
 8. 向吸附柱CR2中加入500 μl 缓冲液GD, 8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
 9. 向吸附柱CR2中加入600 μl 漂洗液PW, 8,000 rpm ($\sim 6,000 \times g$) 室温离心60 sec, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管中。
 10. 重复操作步骤9。
-



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

11. 将吸附柱CR2放回收集管中，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱开盖置于室温放置2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱DNA。

12. 将吸附柱CR2转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加65°C预热的30-100 μl洗脱缓冲液TB或ddH₂O洗脱，室温放置2-5 min，12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，将收集有DNA的离心管-20°C保存。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CR2中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min。洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20°C，以防DNA降解。