

版本号: DP150804

# TIANquick FFPE DNA Kit

## 石蜡包埋组织DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP330

### 产品内容

产品组成	DP330-02 (50 preps)
裂解液GL (Buffer GL)	30 ml
缓冲液GP (Buffer GP)	3 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml
吸附柱CR2 (Spin Columns CR2)	50个
收集管 (2ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C 保存条件下, 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

本试剂盒采用特殊的脱蜡方式和裂解条件释放组织切片中的DNA，从最大程度上减少了因福尔马林交联对DNA的损伤。此外，采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统进行FFPE DNA提取。整个过程不涉及有机试剂二甲苯，安全可行、简单快速；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。

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基因分析和STR基因分析；药物基因组学研究等。

## 产品特点

**方便快捷：**整个操作过程在1 h内完成。

**安全可行：**不涉及二甲苯等有机试剂，无毒无害。

**经济高效：**无需蛋白酶K消化，独特的裂解液和特异的吸附柱提取高纯度的DNA。

**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 小时为宜，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GL、GD中有沉淀，可在37°C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。
  7. DNA含量极低的石蜡包埋组织样本推荐使用TIANGEN DP331石蜡包埋组织DNA提取试剂盒进行提取。
-

---

## 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  $\mu\text{m}$ 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  $\mu\text{l}$  PBS (10 mM, pH7.4)涡旋振荡混匀12,000 rpm (~13,400  $\times g$ ) 室温离心1 min, 弃上清, 重复3次。
2. 将样本装于1.5 ml无菌离心管中, 加入500  $\mu\text{l}$ 裂解液GL, 再加入50  $\mu\text{l}$ 缓冲液GP, 剧烈涡旋10 sec。
3. 98 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min, 期间颠倒混匀3次, 直至样品完全溶解。

**注意: 水浴请用长镊子操作。**

4. 12,000 rpm (~13,400  $\times g$ ) 室温离心5 min。
5. 使用200  $\mu\text{l}$ 枪头沿管壁小心吸取中间层的水相清液于新的离心管中 (上层是石蜡及蛋白混合物, 下层为少许杂质沉淀, 如果分层不彻底可以延长离心时间, 直到上层混合物和水相清液很好的分开)。
6. (可选步骤) 如果要去除RNA, 可以将样品中加入2  $\mu\text{l}$  RNase A (100 mg/ml), 室温孵育2 min后, 进行下一步操作。
7. 加入2倍体积的无水乙醇 (例: 450  $\mu\text{l}$ 水相清液加入900  $\mu\text{l}$ 无水乙醇), 充分混匀, 静置3 min。

8. 将上一步所得的混合液加入一个吸附柱CR2中, 8,000 rpm (~6,000  $\times g$ ) 室温离心2 min, 倒掉收集管中的废液, 重新将吸附柱放回收集管中。

**注意: 吸附柱最大容量为700  $\mu\text{l}$ , 可将剩余液体重复上述步骤上柱。**

9. 向吸附柱CR2中加入500  $\mu\text{l}$ 缓冲液GD, 8,000 rpm (~6,000  $\times g$ ) 室温离心1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
  10. 向吸附柱CR2中加入600  $\mu\text{l}$  漂洗液PW 8,000 rpm (~6,000  $\times g$ ) 室温离心1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
-

---

11. 重复操作步骤10。

12. 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。

13. 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TE或ddH<sub>2</sub>O洗脱，室温放置2-5min，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ddH<sub>2</sub>O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。

---