

医疗样本及动物组织核酸提取方案——FFPE 篇

背景介绍

石蜡切片 (paraffin section) 技术是组织学常规制片技术中最为广泛应用的方法。石蜡切片不仅用于观察正常细胞组织的形态结构,也是病理学和法医学等学科用以研究、观察及判断细胞组织的形态变化的主要方法,而且也已相当广泛地用于其他许多学科领域的研究中。

TIANGEN 目前拥有一系列 FFPE 样本的核酸提取方案,采用了独特高效石蜡去除系统,最大限度去除石蜡残留,可提供高质量核酸供进行下游各类研究使用。

样本类型

体表肿物,淋巴结穿刺组织,肝脏穿刺组织等的福尔马林固定样本或者石蜡包埋组织样本,石蜡块、石蜡片、福尔马林等固定液的样本

样本特点

1. 材料成分复杂: FFPE 样本中含有大量的石蜡,石蜡会影响裂解液发挥作用,会对核酸提取造成非常大的干扰。去除石蜡的方法有二甲苯法和其他的特殊方法,脱蜡之后对裂解液的要求也比较高,需要高效的脱蜡方式和充分的裂解方式相结合。
2. 样本保存在石蜡中,样本不够新鲜,对裂解液的裂解能力要求非常高。

样本保存

FFPE 样本建议常温保存

样本前处理

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,
2. 加入 PBS 涡旋振荡混匀室温离心,弃上清,重复 3 次。

- 将样本装于无菌离心管中，加入二甲苯或者无需加入二甲苯，剧烈涡旋。加入裂解液等按照说明书进行提取。

注意事项

在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，时间过长会导致基因组断裂，影响下游实验。

方案介绍

TIANGEN 根据 FFPE 样本的特点，推出了一系列核酸提取试剂盒，可实现从不同 FFPE 类型中高效分离纯化高质量核酸。

方案分类	产品名称	产品特点	适用客户类型
DNA 无二甲苯脱蜡柱法方案	<u>石蜡包埋组织 DNA 快速提取试剂盒 (DP330)</u>	方便快捷，整个操作过程仅需要 1h 内完成；安全，不涉及二甲苯脱蜡，无毒无害；经济高效，无需蛋白酶 K 消化。	高度要求安全，追求性价比高的客户
DNA 二甲苯脱蜡法柱法方案	<u>石蜡包埋组织 DNA 提取试剂盒 (DP331)</u>	样本广泛，可从石蜡包埋、福尔马林固定的组织中分离纯化出基因组 DNA；稳定可靠，彻底去除污染物和 PCR 抑制剂。	医学临床检测以及科学研究
RNA 柱法方案	<u>RNAprep Pure 石蜡包埋组织切片总 RNA 提取试剂盒 (DP439)</u>	采用硅基质膜柱法纯化方式，在可能的程度内获得的总 RNA 纯度更高，信息更为完善；操作简便快捷；适用于下游的各种实验的检测应用	适用于从福尔马林固定的石蜡包埋组织切片中提取总 RNA 的客户。

方案实验结果展示

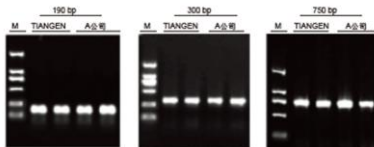
DNA 无二甲苯脱蜡柱法方案结果展示

FFPE

提取方法：石蜡包埋组织DNA快速提取试剂盒 (DP330)

下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验

结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供



实验方法：利用天根石蜡包埋组织DNA快速提取解决方案和竞品(A公司)提取5张10 μm鼠肝组织石蜡切片样本基因组DNA, 洗脱体积50 μl, 上样量5 μl, 20 μl PCR反应体系扩增190 bp, 300 bp和750 bp片段

结果评价：石蜡包埋组织DNA快速提取解决方案, 基因组DNA 提取得率高、纯度高, 对PCR无抑制, 完全能够满足PCR、酶切、杂交等实验需求。

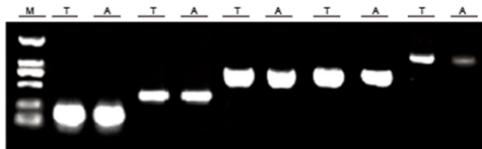
DNA 二甲苯脱蜡法柱法方案结果展示

FFPE

提取方法：石蜡包埋组织DNA提取试剂盒 (DP331)

下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验

结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供



实验方法：利用天根石蜡包埋组织DNA提取试剂盒(T)和竞品试剂盒(A)提取5张10 μm鼠肝组织石蜡切片样本基因组DNA, 洗脱体积50 μl, 上样量5 μl, 20 μl PCR反应体系扩增190 bp, 330 bp, 500 bp, 650 bp和1300 bp片段

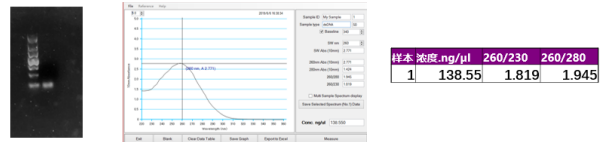
结果评价：石蜡包埋组织DNA快速提取解决方案, 基因组DNA 提取得率高、纯度高, 对PCR无抑制, 完全能够满足PCR、酶切、杂交等实验需求。

甲状腺组织石蜡包埋

提取方法：石蜡包埋组织DNA提取试剂盒 (DP331)

下游应用：PCR

结果展示：本实验结果由上海交通大学医学院附属瑞金医院病理科提供



实验方法：起始样本量为20mg, 洗脱体积40 μl, DNA上样量为2ul, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min。

结果评价：电泳有清晰的条带, 紫外分光光度计结果显示基线平整, 证明提取的DNA纯度高, 可满足下游的PCR实验。石蜡包埋样本含有大量杂质, 提取难度较大, 常规方法易出现降解情况, DP331试剂盒极好地克服了石蜡包埋组织样本DNA提取困难点, 使用效果很好; 消化1h就可以提取到高质量的DNA, 使用极其方便。

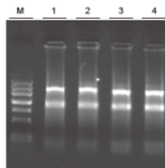
RNA 柱法方案结果展示

FFPE

提取方法：RNAprep Pure 石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒 (DP439)

下游应用：用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验

结果展示：本实验结果由天根生化科技(北京)有限公司提供



实验方法：提取大鼠肝组织石蜡切片样本RNA, 洗脱体积50 μl, 上样量8 μl, 上样5 μl, 1%琼脂糖凝胶电泳, 6 v/cm电泳20 min

结果评价：石蜡包埋组织切片总RNA提取解决方案可以提取高纯度、高浓度、完整性好的RNA, 完全能够满足 RT-PCR、RT-qPCR、芯片分析、二代测序等后续实验需求