

版本号: DP240617

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
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

该试剂盒所有组分置于室温 (15-30°C) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37°C水浴中预热10 min以溶解沉淀, 不影响效果。

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。

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 h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. 本产品适用于科学研究。
 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. 若裂解液GL、缓冲液GD中有沉淀，可在37℃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缓冲液GD和漂洗液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，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 μl 裂解液GL，再加入50 μl 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（ $\sim 13,400\times g$ ）室温离心5 min。

5. 使用200 μl 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）** 如果要去掉RNA，可以将样品中加入2 μl RNA酶A（100 mg/ml）（客户自备，TIANGEN，目录号：RT405-12），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 μl 水相清液加入900 μl 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（ $\sim 6,000\times g$ ）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 μl ，可将剩余液体重复上述步骤上柱。

9. 向吸附柱CR2中加入500 μl 缓冲液GD（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），8,000 rpm（ $\sim 6,000\times g$ ）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 μl 漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），8,000 rpm（ $\sim 6,000\times g$ ）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。



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. 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℃预热的30-100 μl洗脱缓冲液TE或ddH₂O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℃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℃，以防DNA降解。