

版本号: DP150804

# TIANamp FFPE DNA Kit

## 石蜡包埋组织DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP331

### 产品内容

产品组成	DP331-02 (50 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	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TE (Buffer TE)	15 ml
Proteinase K	1 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

本试剂盒采用二甲苯脱蜡方式去除石蜡，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GA、GB、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。
-

---

## 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( $\sim 13,400 \times g$ )室温离心1 min, 弃上清, 重复3次,然后从步骤7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1 ml二甲苯, 剧烈涡旋10 sec。
3. 12,000 rpm( $\sim 13,400 \times g$ )室温离心2 min, 弃上清。**注意: 不要倒掉沉淀。**
4. 在上述管中加入1 ml无水乙醇, 涡旋混匀10sec。
5. 12,000 rpm( $\sim 13,400 \times g$ )室温离心2 min, 弃上清。**注意: 不要倒掉沉淀。**
6. 室温放置5-10 min, 充分挥发乙醇。
7. 加入200  $\mu\text{l}$ 缓冲液GA和20  $\mu\text{l}$  Proteinase K, 充分混匀, 56 $^{\circ}\text{C}$  孵育1 h直至样本完全裂解。
8. 置于90 $^{\circ}\text{C}$  孵育1 h。
9. (**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。
10. 在上管中加入220  $\mu\text{l}$ 缓冲液GB涡旋混匀, 再加入250  $\mu\text{l}$ 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。
11. 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。

**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。**

---

- 
12. 向吸附柱CR2中加入500  $\mu\text{l}$ 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。
  13. 向吸附柱CR2中加入600  $\mu\text{l}$  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。
  14. 重复操作步骤13。

15. 将吸附柱CR2放回收集管中, 12,000 rpm( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min, 倒掉废液。将吸附柱开盖置于室温放置2-5min, 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。**

16. 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 $^{\circ}\text{C}$ 预热的30-100  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液TE或ddH<sub>2</sub>O洗脱, 室温放置2-5 min, 12,000 rpm( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min, 将收集有DNA的离心管-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

**注意: 洗脱缓冲液体积不应少于30  $\mu\text{l}$ , 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 ( $\sim 13,400 \times g$ )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 $^{\circ}\text{C}$ , 以防DNA降解。**

---