

FFPE DNA Kit

石蜡包埋组织DNA提取试剂盒

目录号：A O 3 1 0 5

试剂盒组成

Component	DL3201 (50 T)	DL3202 (100 T)
Buffer SL	15 ml	25 ml
Buffer VL	15 ml	25 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
Buffer WB2 (concentrate)	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇
Buffer EB	10 ml	20 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	1 ml x 2
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温（15 - 30℃）保存。

产品介绍

本试剂盒采用二甲苯脱蜡方式去除石蜡，应用特殊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。本试剂盒适用于从福尔马林固定、石蜡包埋的组织中有效纯化总DNA，包括基因组DNA和线粒体DNA。采用优化的缓冲体系使裂解液中的DNA高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，其他杂质可流过膜，PCR和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度DNA，可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

注意事项

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。

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。

本试剂盒适用于医学、科学实验研究。

本试剂盒所提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。

若 Buffer SL 和 VL 中有沉淀，可在 37℃ 水浴中重新溶解，摇匀后使用。

标准抽提步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

● 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！

样本处理

石蜡切片：取石蜡切片（5 - 10 μm 厚，1 x 1 cm^2 大小）5 - 8 张。

石蜡块：手术刀刮取约 30 mg 的组织样本（尽量除去多余的石蜡）。

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。

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 ，pH 7.4）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，可直接步骤 5 开始操作。

将石蜡切片或石蜡块样本放入 1.5 ml 离心管中，加入 1 ml 二甲苯，盖紧管盖，剧烈涡旋振荡 10 - 30 sec 。12,000 rpm 室温离心 2 min ，吸弃上清，保留沉淀。

加入 1 ml 无水乙醇，涡旋混匀 10 sec 。12,000 rpm 室温离心 2 min ，吸弃上清，留沉淀。

打开管盖，室温或 37℃ 干燥 5 - 10 min ，直至无乙醇残留。

加入 200 μl Buffer SL 和 20 μl Proteinase K，涡旋混匀，56℃ 孵育 1 - 2 h 直至样本完全裂解。

注意：如需除去 RNA，可加入 4 μl 浓度为 10 mg/ml 的 RNase A 溶液（货号：A03105），涡旋混匀，室温放置 5 min 。

加入 220 μl Buffer VL，涡旋振荡 15 sec ，充分混匀，70℃ 水浴 10 min 。

可选步骤：水浴结束后若消化液仍存在明显不消化的杂质，12,000 rpm （ $\sim 13,400 \times g$ ）离心 2 min 去除杂质。转移上清液至新的离心管。

加入 220 μl 无水乙醇，涡旋混匀 15 sec 。将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中。12,000 rpm 离心 1 min ，弃废液。

向吸附柱 AC 中加入 500 μl Buffer WB1，12,000 rpm 离心 1 min ，倒掉废液。

向吸附柱 AC 中加入 600 μl Buffer WB2（使用前请检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 1 min ，倒掉废液。

重复步骤 10。

将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min ，尽量除去残留的 WB2，弃掉收集管和废液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。

将吸附柱A C放入一个新的1.5 ml离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50 - 100 μ l Buffer EB，室温放置3 - 5 min，12,000 rpm 离心1 min，收集DNA溶液。 - 20°C保存DNA。

注意：1) Buffer EB在56°C中预热可以增加产量。也可用无菌水洗脱，但应确保其PH在7.0 - 8.5范围内。

2) 如果要提高DNA的终浓度，可以使用小于100 μ l EB洗脱，也可以将步骤13所得的DNA溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期DNA的量小于1 μ g，推荐用30 μ l Buffer EB进行洗脱。