

For research use only

Version Number: 1.1

## FFPE DNA Isolation Kit

For genomic DNA purification from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples

试剂盒组成	DE-05411
	50 T
Buffer FL1	15 mL
Buffer FL2 *	15 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease Plus	1 mL × 2
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

\*: Buffer FL2、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

### 产品简介

该试剂盒专用于从甲醛固定的组织或石蜡包埋组织中提取纯化高质量的基因组 DNA。

石蜡包埋样本基因组 DNA 会因其保存的时间或环境发生降解，导致基因组 DNA 提取困难。本试剂盒采用独特优化的配方，适用于从石蜡包埋样品中提取基因组 DNA，提取成功率高。整个过程无需用到有毒的酚、氯仿或异丙醇沉淀。

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心柱、全新的 Foregene Protease Plus 以及独特的缓冲液体系，可以在 2-5 hr 内提取到高质量的石蜡包埋组织基因组 DNA。

### 储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15-25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2-8°C。
- ❖ Foregene Protease Plus 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

### 注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也会下降。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer FL1、Buffer FL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前添加 60 mL 无水乙醇(DE-05411)。
- ❖ 在样品裂解过程中，应始终保持样品浸于裂解缓冲液中，若样品黏附在管盖及内壁，可通过短暂离心进行处理。
- ❖ 洗脱体积： Buffer EB 不应少于 50  $\mu$ L，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

### 材料取用说明

甲醛固定组织或石蜡包埋组织样本：10-50 mg。

## 操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

### A、石蜡包埋组织样本预处理步骤

1. 用手术刀将组织块中多余的石蜡切掉, 取 **10-50 mg** 石蜡包埋组织块样品, 切成小块或 5-10  $\mu\text{m}$  的切片, 放入一个 1.5 mL 离心管中。

注意: 若石蜡组织块中的部分组织在空气中暴露时间较长, 应将其表面 1-2 片切片刮去不用。

2. 加入 **1.2 mL 二甲苯**。
  - a 石蜡切片: 充分涡旋混匀 10 sec.
  - b 石蜡组织块: 充分涡旋混匀后置于 37°C 放置 30 min.
3. 13,300 rpm (~17,000  $\times$ g) 离心 2 min, 使用移液器将上清液吸除, 切勿吸到或晃动沉淀。

注意: 若离心后管壁上残留石蜡, 应再次加入 1.2 mL 二甲苯充分混匀后离心。

4. 加入 **1.2 mL 无水乙醇** 充分混匀。13,300 rpm (~17,000  $\times$ g) 离心 2 min, 使用移液器将上清液吸除, 切勿吸到或晃动沉淀。
5. 打开离心管盖, 置于 65°C 金属浴 5-10 min, 直至乙醇挥发完全。接下来按照步骤 B 进行石蜡组织基因组 DNA 提取。

### B、石蜡组织基因组DNA提取步骤

1. 在含有经步骤 A 处理样本的离心管中加入 **300  $\mu\text{L}$  Buffer FL1**, **40  $\mu\text{L}$  Foregene Protease Plus** 涡旋混匀。
2. 将离心管放置于 65°C 金属浴或水浴中, 按下面说明消化组织样本。
  - a 石蜡切片: 消化约 1 hr 即可, 其间每 20 min 涡旋混匀一次。
  - b 石蜡块: 消化 2-5 hr, 其间每 1 hr 涡旋混匀一次。

注意: 涡旋时间不宜太长, 每次 2 秒即可, 长时间的剧烈涡旋会导致基因组 DNA 断裂成小片段。

如果酶解 5 hr 之后还有少许不溶固体或杂质, 直接进行下一步操作。

3. 酶解完成后, 加入 **300  $\mu\text{L}$  Buffer FL2**, 充分颠倒混匀, 置于 65°C 金属浴或水浴中 10 min。
4. 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 5 min。
5. 吸取 600  $\mu\text{L}$  上清液至新的 2 mL 离心管中。

注意: 在吸取上清时应避免沉淀被吸入, 如果所吸取的上清中存在较多固体杂质, 可重复步骤 4 一次。

6. 加入 **150  $\mu\text{L}$  无水乙醇**, 剧烈振荡至充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。
7. 把离心柱放入收集管, 将上述溶液和絮状沉淀转移至离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管, 向离心柱中加入 **500  $\mu\text{L}$  Buffer PW**, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
9. 将离心柱放回收集管, 向离心柱中加入 **700  $\mu\text{L}$  Buffer WB**, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
10. 重复步骤 9 一次。
11. 将离心柱放回收集管, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 空管离心 2 min。
12. 将离心柱移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **50  $\mu\text{L}$**  已于 65°C 预热的 **Buffer EB** (切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min。再次向膜中央悬空滴加 **50  $\mu\text{L}$**  已预热的 **Buffer EB**, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液合并。

注意: 如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min。