



FFPE DNA Isolation Kit

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

Research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组DNA的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
注意事项	6
基因组DNA提取得率和纯度	6
基因组DNA片段大小	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
安全性	8
操作指南	9
● 石蜡包埋组织基因组DNA提取操作步骤	10
DNA浓度及纯度测定	12
快速操作示意图	13
问题分析指南	14

产品介绍

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 2-5hr 内提取到高质量的石蜡包埋组织基因组 DNA。

产品特点

- ◆ **无 RNA 酶污染：**无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA，避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ **速度快：**Foregene Protease Plus 具有比同类蛋白酶更高的活性，消化组织样本速度快；操作简单，基因组 DNA 提取操作在 2-5hr 内即可完成。
- ◆ **方便：**离心操作均在常温，无需 4°C 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ **安全：**无需有机试剂抽提。
- ◆ **质量高：**提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低，能满足各种实验的要求。

试剂盒应用

该试剂盒适用于纯化以下样本基因组 DNA：甲醛固定的样本、石蜡包埋组织样本。

基因组 DNA 的应用

石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒纯化获得的基因组 DNA 纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

FFPE DNA Isolation Kit 石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒			
试剂盒组成	DE-05411	DE-05412	DE-05413
	50 次	100 次	250 次
Buffer FL1	20ml	40ml	100ml
Buffer FL2	20ml	40ml	100ml
Buffer PW	30ml	60ml	150ml
Buffer WB	25ml	50ml	125ml
Buffer EB	12.5ml	25ml	65ml
Foregene Protease Plus	1.25ml×2	5ml	12.5ml
离心柱	50 个	100 个	250 个
收集管	50 个	100 个	250 个
说明书	1 份	1 份	1 份

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	2-5hr (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织酶解物分离	离心分离
离心柱液体盛装量	800µl	纯化柱 DNA 承载量	30µg
最小洗脱体积	100µl	组织样本处理量	10-50mg

储存条件

- ◆ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

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。

- ◆ 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。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer FL1: 提供固定组织的酶解环境。
- ◆ Foregene Protease Plus: 在 Buffer FL1 的环境下酶解组织样本。
- ◆ Buffer FL2: 失活 Foregene Protease Plus, 并提供 DNA 上柱环境。
- ◆ Buffer PW: 去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。
- ◆ Buffer WB: 去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-only Column: 特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

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。
- ◆ 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 在使用前分别添加 60ml 无水乙醇(DE-05411)、120ml 无水乙醇(DE-05412)、300ml 无水乙醇(DE-05413)。
- ◆ 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。
- ◆ 洗脱体积: Buffer EB 不应少于 100 μ l, 否则会影响 DNA 产量。
- ◆ 不需要在 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。

基因组 DNA 提取得率和纯度

石蜡包埋组织基因组 DNA 提取得率与组织的来源、保存条件、保存时间、用量等因素相关, 所得基因组 DNA 纯度均满足常规分子生物学实验操作, 其 OD_{260/280} 在 1.7-1.9。

基因组 DNA 片段大小

石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒是采用硅胶膜柱分离纯化多种样本来源的基因组 DNA，纯化获得的基因组 DNA 片段根据所保存的方式和时间会较大范围内分布，成弥散的条带，见下图实例(仅作参考)。



FFPE DNA Isolation Kit处理10mg保存不同时间、不同组织的样本，取5%纯化的基因组DNA 1%琼脂糖凝胶电泳。

操作前准备事项

使用本试剂盒前,请务必仔细阅读说明书。石蜡包埋基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速,说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 多种来源的组织: 多年保存的石蜡包埋组织、甲醛固定组织。
- ◆ 1.5ml 或 2ml 无菌离心管。
- ◆ 无水乙醇。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400\times g$)、65°C水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ 二甲苯、无水乙醇(96-100%)。

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用,请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时,穿戴合适的实验服,手套,防护眼镜等。
- ◆ Buffer FL2、Buffer PW 含有胍盐: 变性剂,刺激性。
- ◆ Buffer WB 含无水乙醇: 易燃。
- ◆ Foregene Protease Plus: 增敏剂,刺激性。

操作指南

石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理甲醛固定或石蜡包埋组织样本，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照石蜡包埋组织基因组 DNA 提取操作步骤进行相关实验。

材料取用说明

- ◆ 甲醛固定组织或石蜡包埋组织样本：10-50mg。

预防样本间交叉污染

为了防止取样和纯化过程中出现样本间交叉污染，可以采取以下措施：

- ◆ 取样过程中，应确保每一单独样本均使用的是无污染的取样器材和一次性离心管。
- ◆ 在吸取样本或溶液的时候，应小心轻柔，避免溶液飞溅。
- ◆ 离心管经振荡操作后，应短暂离心，待管口液体移除后再开盖操作。
- ◆ 整个操作过程应戴上手套进行。若出现手套与样品及其溶液接触的情况，应立即进行更换。

石蜡包埋组织基因组 DNA 提取操作步骤

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 **10-50mg** 石蜡包埋组织块样品，切成小块或 **5-10 μ m** 的切片，放入一个 **1.5ml** 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 **1.2ml** 二甲苯。

2a: 石蜡切片：充分涡旋混匀 **10s**。

2b: 石蜡组织块：充分涡旋混匀后置于 **37 $^{\circ}$ C** 放置 **30min**。

3. **13,300rpm**(~**17,000xg**)离心 **2min**，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 **1.2ml** 二甲苯充分混匀后离心。

4. 加入 **1.2ml** 无水乙醇充分混匀。**13,300rpm**(~**17,000xg**)离心 **2min**，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 $^{\circ}$ C** 金属浴 **5-10min**，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 μ l** Buffer FL1，**40 μ l** Foregene Protease Plus 涡旋混匀。

2. 将离心管放置于 **65 $^{\circ}$ C** 金属浴或水浴中，按下面说明消化组织样本。

2a: 石蜡切片：消化约 **1hr** 即可，其间每 **20min** 涡旋混匀一次。

2b: 石蜡块：消化 **2-5hr**，其间每 **1hr** 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 **5hr** 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 μ l** Buffer FL2，充分颠倒混匀，置于 **65 $^{\circ}$ C** 金属浴或水浴中 **10min**。

4. **12,000 rpm** (~**13,400xg**)离心 **5min**。

5. 吸取 **600 μ l** 上清液至新的 **2ml** 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。

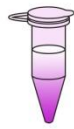
6. 加入 **150 μ l** 无水乙醇，剧烈振荡至充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
7. 把离心柱放入收集管，将上述溶液和絮状沉淀转移至离心柱中，**12,000rpm(~13,400 \times g)** 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管，向离心柱中加入 **500 μ l Buffer PW**，**12,000rpm(~13,400 \times g)** 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
9. 将离心柱放回收集管，向离心柱中加入 **700 μ l Buffer WB**，**12,000rpm(~13,400 \times g)** 离心 1min，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，**12,000rpm(~13,400 \times g)**空管离心 2min。
12. 将离心柱移至新的 2ml 离心管中，开盖置于 **65 $^{\circ}$ C**金属浴 2min。
注意：离心柱开盖挥发时间不宜超过 **10min**，否则难以洗脱 DNA。
13. 向膜中央悬空滴加 **50 μ l** 已于 **65 $^{\circ}$ C**预热的 Buffer EB，室温放置 5min，**12,000rpm(~13,400 \times g)** 离心 1min。再次向膜中央悬空滴加 **50 μ l** 已预热的 Buffer EB，**12,000rpm(~13,400 \times g)** 离心 1min。
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，**12,000rpm (~13,400 \times g)** 离心1min。

DNA 浓度及纯度检测

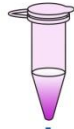
- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- ◆ DNA 的 OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀≈1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

快速操作示意图

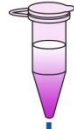
石蜡块、石蜡切片或甲醛固定组织



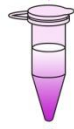
样本预处理 {
 去石蜡：1.2ml二甲苯混匀(17,000×g；2min)
 去二甲苯：1.2ml无水乙醇(17,000×g；2min)
 挥发乙醇：65°C；5-10min



样本酶解 {
 300μl Buffer FL1：提供酶解环境
 40μl Foregene Protease Plus：65°C { 石蜡块：2-5hr
 300μl Buffer FL2：65°C；10min { 石蜡切片：~1hr



离心：13,400×g；5min
 去沉淀，转移600μl上清至新的离心管中。



提供上柱环境：按每600μl上清加入150μl无水乙醇的比例
 添加适量的无水乙醇至上清液中，混匀。



吸附：上柱吸附基因组DNA(13,400×g；1min)



洗涤1：500μl Buffer PW(13,400×g；1min)
 去蛋白、去RNA

洗涤2：700μl Buffer WB两次(13,400×g；1min)
 脱盐



离心：空管离心(13,400×g；2min)
 去残留乙醇



洗脱：50μl Buffer EB或ddH₂O(13,400×g；1min)
 (添加Buffer EB后室温5min，再离心以增加洗脱效率)

问题分析指南

以下针对石蜡包埋组织基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-66070618 或 E-mail: Tech@foregene.com。

低产量或无 DNA

1. 石蜡包埋组织样本用量过少。
建议：对于保存时间过长或基因组 DNA 降解比较厉害的组织样本，可以适当增加组织样本的用量，但是不宜超过 50mg。
2. 样本没有进行预处理或预处理不彻底。
建议：石蜡包埋组织样本需进行彻底的预处理，以免样本中残留的石蜡或其他蛋白酶抑制因子干扰酶解反应。
3. Foregene Protease Plus 活性降低或失活。
建议：请确认 Foregene Protease Plus 保存条件或者更换新的 Foregene Protease Plus 进行酶解反应。
4. Buffer WB 没有添加无水乙醇。
建议：请确认 Buffer WB 中是否添加正确体积的无水乙醇。
5. 添加洗脱液前离心柱过度干燥。
建议：离心柱开盖置于金属浴时间不宜超过 10min，否则难以洗脱 DNA。
6. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。
建议：将 65°C 预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5min 增加洗脱效率。

提取获得基因组 DNA 纯度低

1. 杂蛋白、RNA 残留。
建议：在上清液与无水乙醇混匀前尽量保证上清液中无沉淀；用 Buffer PW 洗涤纯化柱时务必使用正确的离心转速。
2. 盐离子残留。
建议：请按说明书使用 Buffer WB 洗涤纯化柱 2 次，每次加入后室温静置 1min。

3. 乙醇残留。

建议：请确认空管离心后 65°C 金属浴是否使乙醇挥发完全。

4. 预处理不充分。

建议：增加二甲苯脱蜡和乙醇洗脱的次数；洗脱二甲苯时应注意充分挥发乙醇。

中国·福际 World's Foregene

成都福际生物技术有限公司

电话: 028-83360257, 028-83361257

传真: 028-83361257

Email: info@foregene.com

Http://www.foregene.com

