

伯优®FFPE样本DNA提取试剂盒(磁珠法)使用说明书

产品货号:72313-50

Ver 25.04

【产品介绍】

本产品适用于从福尔马林固定、石蜡包埋组织中分离纯化基因组DNA,可有效逆转福尔马林对核酸的修饰,具有简单快捷、核酸纯度高等优点。本产品可手动操作,亦可配合自动化提取设备使用,得到的基因组DNA可直接用于PCR、qPCR、焦磷酸测序及二代测序等实验。

【产品组分】

72313-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
Box1 (72313-50-01)	蛋白酶K	NC-22-001	1 mL	1
	磁珠D2	ND-23-002	1 mL	1
Box2 (72313-50-02)	裂解液FDL	ND-23-009	12 mL	1
	裂解液FDB	ND-23-010	12 mL	1
	洗液FDW1	ND-23-011	12 mL	1
	洗液FDW2	ND-23-012	6 mL	1
	洗脱液TE	ND-23-007	6 mL	1

【储存条件】

Box 1:2 ~ 8°C保存

Box 2:室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

- 1.磁珠D2:不可冷冻,不可离心,在使用前需涡旋振荡30秒以上使磁珠重悬混匀。
- 2.洗液FDW1、洗液FDW2:第一次使用前请按照试剂瓶身标签的说明在洗液中加入无水乙醇并做好标记。
- 3.建议将石蜡样本切成5~10 μM薄片,有利于脱蜡和组织消化。若条件受限,应尽量将样本切碎。

【实验所需材料(未包含)】

试剂:无水乙醇、二甲苯(或等效替代品)、RNase A(可选)

仪器:水浴锅/金属浴、离心机、磁力架(1.5或2 mL) 或自动化提取设备

耗材:1.5 mL离心管

【实验前准备】

- 1.确认洗液FDW1中已加入16 mL无水乙醇。
- 2.确认洗液FDW2中已加入24 mL无水乙醇。



3.56°C金属浴/水浴锅。

4.90°C金属浴/水浴锅。

5.RNA消化(可选):37°C金属浴/水浴锅

【实验流程】

- ① 用干净刀片小心去除多余石蜡,把石蜡样品切成 5~10 μM 薄片,有利于消化。
- ② 取1~10片石蜡样本置于1.5 mL离心管中,加入1 mL二甲苯(或等效替代品),振荡混匀。放入56°C金属浴/水浴锅中孵育3分钟。最高速离心2分钟,小心弃上清,注意尽量不要吸到组织。
*离心后若二甲苯(或等效替代品)凝结,可将离心管放置于56°C孵育,融化后弃上清,并再次重复此脱蜡步骤1~2次以保证脱蜡完全。
- ③ 加入1 mL无水乙醇,振荡混匀,最高速离心2分钟,小心弃上清,注意尽量不要吸到组织。
- ④ 加入200 μL 裂解液FDL和20 μL 蛋白酶K,振荡混匀。将离心管放入56°C金属浴/水浴锅中孵育1小时,期间需混匀数次。若组织残留较多,可延长消化时间至2小时。
- ⑤ 将离心管放入90°C 金属浴/水浴锅中孵育1小时。
- ⑥ 将离心管取出,室温静置3分钟。最高速离心5分钟,小心吸取上清至新的1.5 mL离心管中,注意不要吸到沉淀。
- ⑦ (可选)若RNA残留对后续实验影响较大,可在离心管中加入20 μL RNase A(20 mg/mL),振荡混匀,将离心管放入37°C 金属浴/水浴锅中孵育30分钟。
- ⑧ 依次加入200 μL 裂解液FDB、200 μL 无水乙醇和20 μL 磁珠D2。振荡混匀,室温孵育10分钟。
- ⑨ 将离心管置于磁力架上,静置5分钟,待溶液澄清后,小心移除上清。
- ⑩ 加入500 μL 洗液FDW1,振荡混匀。将离心管置于磁力架上,静置1分钟,待溶液澄清后,小心移除上清。
- ⑪ 加入500 μL 洗液FDW2,振荡混匀。将离心管置于磁力架上,静置1分钟,待溶液澄清后,小心移除上清。
- ⑫ 瞬时离心磁珠,将离心管置于磁力架上,小心吸尽上清。
- ⑬ 离心管开盖5分钟,空气干燥磁珠。
- ⑭ 加入50~100 μL 洗脱液TE,振荡混匀。室温静置5分钟。
- ⑮ 将离心管置于磁力架上,静置3分钟,待溶液澄清后,吸取上清液至新的1.5 mL离心管中。
- ⑯ 提取的gDNA可直接用于下游实验,或于4°C保存一周。如需长期保存,需存放于-20/-80°C冰箱中。

