

# EasyPure<sup>®</sup> FFPE Tissue Genomic DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE191

保存: 试剂盒在室温 (15-25°C) 干燥条件下保存一年。

## 产品说明

本试剂盒以二甲苯作为石蜡包埋组织的脱蜡剂, 采用酶解法裂解组织且通过特殊的孵育步骤逆转甲醛交联, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA, 适用于从福尔马林等固定液固定组织、石蜡包埋组织块和切片中提取基因组DNA。提取的基因组DNA适用于PCR、qPCR等实验。

## 特点

- 抗甲醛抑制, 裂解能力强, 提取速度快, 提取量高。
- 离心柱高效、特异地吸附DNA, 有效去除蛋白质、盐类等杂质, 所得DNA纯度高。

## 产品组成

Component	EE191-01 (50 rxns)
Lysis Buffer 15 (LB15)	11 ml
Binding Buffer 15 (BB15)	11 ml
Clean Buffer 15 (CB15)	6 ml
Wash Buffer 15 (WB15)	12 ml
Elution Buffer (EB)	25 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Genomic Spin Column with Collection Tubes	50个

## 操作步骤

使用前加不同体积100%乙醇到CB15和WB15中。

Component	EE191-01 (50 rxns)
Clean Buffer 15 (CB15)	24 ml
Wash Buffer 15 (WB15)	48 ml

所有离心均在室温下进行。

### 1、样品处理

A、福尔马林等固定组织: 取10-30 mg固定液中的样品充分切碎后置于1.5 ml离心管中。

- a、加入500  $\mu$ l 1 $\times$ PBS涡旋混匀后, 静置1分钟, 12,000 $\times$ g离心30秒后彻底去除上清。
- b、重复步骤a两次。

B、石蜡包埋组织蜡块: 刀片刮取10-30 mg的组织样品, 尽量去除周围的蜡质。

石蜡包埋组织切片: 刮取3-10张石蜡切片 (5-10  $\mu$ m厚) 上的样品置于1.5 ml离心管中。

- a、在样品中加入1 ml的二甲苯, 剧烈涡旋10秒, 12,000 $\times$ g离心2分钟, 弃上清。

二甲苯有很强毒性, 建议在通风橱中操作, 避免接触到皮肤, 眼睛和呼吸道。另外, 操作时注意远离明火。

- b、加入1 ml无水乙醇, 充分涡旋混匀, 12,000 $\times$ g离心2分钟, 弃上清。
- c、室温或37°C开盖放置, 直至残留乙醇挥发完全。

2、加入200  $\mu$ l LB15和20  $\mu$ l Proteinase K, 充分混匀, 56°C孵育1小时或直至样本完全裂解。

3、置于90°C孵育1小时, 之后短暂离心使盖子上蒸发的液体回到管中。

90°C孵育可使部分逆转DNA的甲醛交联, 但必须注意严控温度和时间, 否则可能导致更多的DNA碎片产生, 所以加热设备必须预热至90°C后再孵育。

如果需要去除RNA, 可以在样品冷却至室温后加入10  $\mu$ l RNase A (20 mg/ml, 目录号: GE101), 室温孵育2分钟。



- 4、加入200  $\mu\text{l}$  BB15, 涡旋混匀 (此时可能产生大量白色沉淀)。
- 5、加入250  $\mu\text{l}$  无水乙醇, 充分振荡混匀后 (如有白色沉淀要充分振荡至其消失) 短暂离心, 裂解液全部加入离心柱中, 12,000 $\times$ g离心1分钟, 弃流出液。
- 6、加入500  $\mu\text{l}$  CB15 (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 $\times$ g离心30秒, 弃流出液。
- 7、加入500  $\mu\text{l}$  WB15 (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 $\times$ g离心30秒, 弃流出液。
- 8、重复步骤7一次。
- 9、15,000 $\times$ g离心2分钟, 开盖放置充分挥发乙醇。
- 10、将离心柱置于一干净的离心管中, 在离心柱的中央加入30-100  $\mu\text{l}$  预热EB (65 $^{\circ}\text{C}$ ) 或去离子水 (pH>7.0) 室温静置1分钟, 12,000 $\times$ g离心1分钟, 洗脱DNA。

#### 注意事项

- 样品用量不宜过多, 以免影响提取效果。
- 为保证所提取DNA的质量, 请确保固定前的组织新鲜, 固定时间最好在14-24小时 (长时间的固定会使DNA断裂的更加严重), 样品包埋前彻底脱水残留的甲醛可能抑制Proteinase K的消化)。
- 使用无菌离心管和枪头, 避免DNase污染。
- 样品保存时间过长 (>2年) 可能导致提取失败。
- 建议PCR前先测DNA浓度, 通常20 ng的DNA作为模板 (20  $\mu\text{l}$ 反应体系) 有较好扩增。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 [complaints@transgen.com.cn](mailto:complaints@transgen.com.cn)

