

YALEPIC[®] 磁珠法 FFPE 样本 DNA 提取试剂盒 (含 RNase A) YALEPIC[®] MagEVO FFPE DNA Isolation Kit (RNase A)

产品货号: YM26006

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO FFPE DNA Isolation Kit (RNase A) 采用具有独特分离作用的纳米磁珠和特制的缓冲液系统, 从福尔马林固定、石蜡包埋组织中简单、快速、高效提取基因组 DNA。本产品使用安全无毒的脱蜡剂去除石蜡, 提取的 DNA 得率高、纯度高、质量稳定, 可供 PCR、Real-time PCR、SNP 基因分型、STR 基因分型、NGS 和药物基因组学研究等使用。

产品组分

序号	产品组分	YM26006 (96 T)
①	FFPE DS Buffer	20 ml
②	FT Buffer	25 ml
③	TZ Buffer	25 ml
④	Wash Buffer GA	80 ml
⑤	Wash Buffer GB	50 ml
⑥	YEB Buffer	15 ml
⑦	Proteinase K	3 x 1.3 ml
⑧	RNase A (100 mg/ml)	200 μ l
⑨	Magbeads PM	2 x 1 ml

适用范围

石蜡组织切片: 5 ~ 8 张 (5 ~ 10 μ m 厚, 1 \times 1cm² 大小, < 20 mg) 。

自备试剂及仪器

无水乙醇；PBS (pH 7.4)；异丙醇；2/15 ml 磁力架或核酸提取仪；涡旋混匀仪或恒温混匀仪；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 离心管；高速离心机；恒温水浴锅。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，配制溶液应使用 RNase-Free ddH₂O，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
2. 要尽快将获得样本在 4% ~ 10% 的福尔马林中固定，固定时间以 14 ~ 24 h 为宜，如甲醛固定时间过长或样本存放时间过久 (> 1 年) 容易导致基因组断裂，DNA 完整性受损，无法扩出长片段基因。(注：包埋前的样品应确保彻底脱水，否则残留的福尔马林会抑制 Proteinase K 的作用。)
3. 首次使用前向 **Wash Buffer GA** 及 **Wash Buffer GB** 中加入标签指定量的无水乙醇。
4. 每次使用前请检查 **FFPE DS Buffer** 和 **TZ Buffer** 是否出现结晶或者沉淀，如有沉淀，将试剂瓶置于 56°C 水浴重新溶解。
5. 若下游实验需降低低频发生的 C>T | G>A 转换 (人为突变)，降低假阳性风险，可在 90°C 孵育 1 h 后加入 7 μ l UDG (1 U/ μ l) (YALI#YY33003)。
6. 请勿冻存 **Magbeads PM**，使用前充分振荡混匀。

实验流程

● 样品预处理

1.1 石蜡包埋样本：

- 1) 用手术刀将组织块中过量的石蜡修剪掉，露出组织后切成 5 ~ 10 μ m 的石蜡切片。收集总厚度不超过 40 μ m 的石蜡切片到一个 1.5 ~ 2 ml 离心管 (自备) (例如 2 片 20 μ m、4 片 10 μ m、8 片 5 μ m 的石蜡切片)。(注：若样品表面已暴露于空气中，则前 2~3 片切片弃掉不用)
- 2) 加入 160 μ l **FFPE DS Buffer**，涡旋振荡 10 s。再加入 180 μ l **FT Buffer** 和 20 μ l **Proteinase K**，涡旋震荡 10 s。12,000 rpm, 25°C 离心 1 min。(注：FFPE DS Buffer 低于 18°C 会凝固，置于 56°C 水浴重新溶解即可，不会影响后续实验)

1.2 福尔马林等固定液中的样本：

- 1) 取约 20 mg 样本，切成小块，置于离心管 (自备) 中，加入 500 μ l 10 mM PBS (pH 7.4, 自备)，涡旋振荡，12,000 rpm 离心 1 min，弃上清，重复 3 次。(注：刀片把样品剪切成尽量小的碎片有利于后续脱蜡)
- 2) 加入 180 μ l **FT Buffer** 和 20 μ l **Proteinase K**，涡旋振荡 10 s 混匀。

2. 56°C 孵育 1 h 左右, 至样品完全溶解。90°C 继续孵育 1 h, 解除福尔马林与核酸交联, 修复变性的核酸。短暂离心, 收集液体至管底。 (注: 温度过高或者孵育时间过长会导致 DNA 断裂, 损害 DNA 完整性; 温度较低或者孵育时间过短会导致 DNA 与福尔马林解交联不彻底, 影响 DNA 得率; 可选步骤: 如需降低低频发生的 C>T | G>A 转换, 有效保留真实突变, 降低假阳性风险。可加入 7 µl UDG (1 U/µl) (YALI#YY33003) , 50°C, 5 min, 无需振荡)
3. 样品室温静置 30 s, 25°C 12,000 rpm 离心 1 min, 沿管壁小心吸取下层水相 (约 180 µl) 于新的离心管 (自备) 中, 尽量避免吸入蜡液或者沉淀。
4. 可选步骤: 如需彻底清除 RNA, 可向溶液加入 2 µl 浓度为 100 mg/ml RNase A 溶液, 振荡混匀, 室温放置 2 min。
5. 加入 20 µl **Proteinase K**, 65°C, 450 rpm 孵育 15 min, 获得**样本预处理液**。

● 手动提取

1. 向**样本预处理液**中加入 200 µl **TZ Buffer**, 立即涡旋振荡混匀。
2. 继续加入 300 µl 异丙醇 (自备) 和 20 µl **Magbeads PM** 立即涡旋振荡混匀 5 s, 瞬时离心后, 离心管固定于 25°C、1,500 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 10 min。 (注: **Magbeads PM** 使用前, 涡旋充分重悬)
3. 向离心管中加入 750 µl **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 涡旋振荡 5 s, 于 25°C、1,500 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 2 min, 瞬时离心后, 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待溶液澄清之后, 弃去溶液。重复本步骤一次。
4. 向离心管中加入 750 µl **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 涡旋振荡 5 s, 于 25°C、1,500 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 2 min, 瞬时离心后, 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待溶液澄清之后, 弃去溶液。重复本步骤一次。
5. 瞬时离心, 将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液, 之后开盖室温放置 5~10 min 使乙醇充分挥发。
6. 将离心管从磁力架取下, 向离心管中加入 50~100 µl **YEB Buffer** 后涡旋振荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中, 之后将离心管固定于 56°C、1,500 rpm 的恒温混匀仪上振荡洗脱 10 min。
7. 瞬时离心, 将离心管固定于磁力架上静置 2 min, 之后将洗脱液转移至新的离心管 (自备) 中 -20°C 保存。

- **全自动核酸纯化仪**: 根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断