



GenePharma

磁珠法基因组DNA 提取试剂盒 (石蜡包埋组织)

B015-V001B-20200323

Magnetic Genomic DNA Kit (PFFPE tissue)

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的超顺磁珠和独特的缓冲液系统，从福尔马林固定，石蜡包被（FFPE）组织样品中分离纯化高质量基因组DNA。样品在二甲苯作用下脱蜡，样品中的DNA在裂解液和蛋白酶K的作用下被释放出来，在结合液的存在下，释放出来的DNA特异性的结合在特殊包被的超顺磁珠上，在外加磁场的吸附下，轻松完成对核酸的吸附固定，通过2-3次的洗涤过程将污染物除去，最后在洗脱液的作用下DNA从磁珠上被洗下而被收集。整个过程不涉及有机试剂和高盐溶液，不带来抑制物，安全、便捷，快速，提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。

使用本试剂盒纯化的DNA可适用于各种常规操作，包括测序、酶切、PCR、文库构建、Southern杂交、SNPs等实验。

试剂盒组成

产品组成	24 rxns	48 rxns	96 rxns
Proteinase K	0.5ml	1mL	2mL
Buffer FTGL	8ml	16ml	32mL
Buffer FTGB	16ml	32mL	64mL
Megbeads	0.8ml	1.5mL	3mL
Buffer FTGW0	25ml	50mL	100mL
Buffer FTGW1	6ml	12mL	24mL
Buffer EB	5ml	10ml	20 mL

保存条件

蛋白酶K：-20℃；磁珠悬浮液：4℃；

其它组分：室温，可稳定保存12个月

适用范围

石蜡包埋组织：10-50mg

注意事项

- ◆ 需要自备材料：二甲苯、无水乙醇、异丙醇、磁铁或磁架、1.5mL离心管(最好低吸附的离心管)；需要去除RNA自备RNase A（100mg/ml），在蛋白酶K消化这一步加入4 μl RNase A；
- ◆ 整个过程请勿离心，以免磁珠不可逆聚集而影响提取效果。

实验准备

- ◆ 磁珠用前一定要充分混匀；
- ◆ 56℃和80℃加热源；
- ◆ 使用前需在Buffer FTGW1中加入相应体积的无水乙醇，使乙醇比例占80%。

操作步骤



1. 脱蜡:

①切下 5 片厚度约为 $10\mu\text{M}$ (重约 10mg) 的组织块, 尽量切去石蜡部分, 置于 1.5ml 的离心管中。加入 1ml 二甲苯, 并振荡30s, 然后室温放置5分钟。20°C, $14000 \times g$ 离心 3 min, 用移液器移尽上清。

②加入 1ml 100%乙醇振荡离心管20s, 然后 20°C, $14000 \times g$ 离心 3 min, 用移液器移去上清, 室温干燥组织沉淀15min。

注意: 任何残留的乙醇可能会影响蛋白酶K的消化以及减少核酸的得率

2. 消化: 加300 μL Buffer FTGL, 振荡至彻底悬浮, 用匀浆机进行匀浆破碎 (使其彻底无大块组织残留), 再加入20 μL 蛋白酶K(PK), 于56°C温浴15min (期间不时混匀), 然后置于80°C 15min;

注意: ① 组织大于50mg时需要增加蛋白酶K (PK)的用量。

3. 裂解结合: 将离心管从80°C加热器上离开, 冷却至室温, 在上清液中加入600 μl Buffer FTGB和600uL 异丙醇, 最后加入磁珠悬浮液(MB) 30 μL (使用前充分重悬), 颠倒混匀5分钟; 将离心管放置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后吸弃液体。

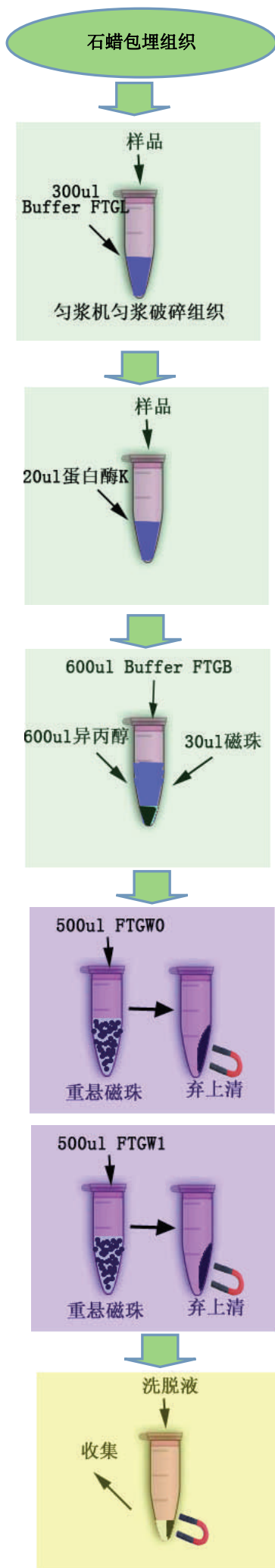
4. 漂洗:

(1) 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入500 μl Buffer FTGW0, 轻微涡旋振荡5S, 使磁珠重悬, 将离心管放置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后吸弃液体, 重复该步骤一次。

(2) 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入500 μl Buffer FTGW I, 轻微涡旋振荡5S, 使磁珠重悬, 将离心管放置于磁力架上, 待磁珠完全吸附后吸弃液体。重复该步骤一次, 待磁珠完全吸附后吸弃液体 (液体一定要弃尽, 不然残留会影响下游实验), 晾干2min。

6. 洗脱: 将离心管从磁力架上取下加入50-200 μl Buffer EB, 剧烈涡旋振荡, 重悬磁珠 (一定要完全重悬磁珠, 若未充分重悬会影响DNA得率), 56°C 放置5min (每隔2min振荡混匀重悬磁珠), 置于磁力架上, 将上清DNA转移至一新的离心管中, 放入-20 °C 保存备用, 保质期为2年。

操作简图



二甲苯脱蜡处理和乙醇洗涤

物理破碎：加入相应体积的Buffer FTGL,使用匀浆机匀浆破碎组织，使其无大的颗粒组织残留。

化学消化：加入相应体积的蛋白酶K进行消化。于56℃温浴15min（期间不时混匀），然后置于80℃ 5min

结合：加入相应体积的结合液、异丙醇和磁珠，颠倒混匀5min。

洗涤I：于磁力架上吸弃上清，加入500 μl buffer FTGW0，混匀磁珠，再次置于磁力架上，吸弃上清，**重复该步骤一次。**

洗涤II：加入500 μl Buffer FTGW1，混匀磁珠，用磁力架将磁珠聚集在管底，吸弃上清（**不要有残留上清**），**重复该步骤一次。**

室温晾干2min。

洗脱：加入50-100 μl Buffer EB，充分混匀磁珠，56℃放置5min（每隔2min，混匀磁珠），吸上清到干净离心管中保存。