

M5 NuClean FFPE DNA kit

新型固定组织基因组提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 NuClean FFPE DNA kit	50T	MF115-01

【储存条件】 15°C~25°C保存，有效期 12 个月

【产品简介】

本试剂盒适用于从福尔马林固定、石蜡包埋组织中有效纯化基因组 DNA。本品使用专门优化脱蜡剂和裂解液，释放福尔马林固定或组织切片样本中的 DNA，不涉及有机试剂二甲苯，无需过夜操作；消化后的样品在较高的温度孵育后，去除游离 DNA 的福尔马林交联，有效提高 DNA 的产量和纯度；优化的缓冲系统使裂解液中的 DNA 可特异结合到吸附膜上，抑制剂通过两步漂洗步骤有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA。同时配置高效微量吸附柱，洗脱体积可低至 20 μ l。经过纯化的 DNA 可以直接用于 PCR、Real-time PCR、SNP 基因分型、STR 基因分型、二代测序和药物基因组学研究等。从福尔马林固定、石蜡包埋样本中分离的 DNA 分子量通常低于新鲜或冷冻样本中的 DNA。DNA 片段化的程度取决于样本类型、储存时间以及固定的条件。

【产品组份】

组分名称	50T
Buffer GTL	15mL
Buffer GL	15mL
Buffer WB1(concentrate)	13mL
Buffer WB2(concentrate)	15mL
Buffer EB	10mL
Proteinase K	1 mL
Spin Columns CG	50 个
Collection Tubes, 2mL	50 个

注意：WB1 和 WB2 为浓缩液，使用之前必需按要求加入无水乙醇。

【注意事项】

1. 本试剂盒适用于石蜡包埋组织、福尔马林固定组织样本的基因组 DNA 提取。
2. 取得新鲜组织样本后要尽快在 4~10%的福尔马林溶液中固定，固定时间以 8~24h 为宜，时间过长导致基因组断裂，影响下游实验。
3. 确保包埋前的样本彻底脱水，残留的福尔马林会抑制 PCR 检测酶的作用。
4. 石蜡包埋样本可在室温下保存，1 年内使用。

【操作步骤】

一、样品处理

1. 取 3~8 片石蜡切片于 1.5 ml 无菌离心管中，加入 250 ul Buffer GTL，90°C 水浴或金属浴 30~60 min。
(此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育时间过长和温度过高都会造成 DNA 的断裂)。
2. 将样品放到离心机中，10000 rpm 离心 1 min，小心穿过石蜡层，吸取 200 ul 包含组织的液体到一新的 1.5 ml 离心管中，加入 20 ul 蛋白酶 K，颠倒混匀，56°C 消化 1 h。
(若组织不容易吸出，可用 1ml 枪头剪去尖部，加入蛋白酶 K 的量可依据组织的多少而定，中间每隔 20 min 混匀一次，若消化 1h 后组织仍未消化完全，可继续消化甚至过夜，至组织基本都消化为准)。

二、DNA 提取

1. 将消化后的样品 10000 rpm 离心 1 min，吸取上清到一新的 1.5ml 离心管中，加入 200 ul Buffer GL 涡旋混匀，70°C 水浴或金属浴 10 min。
2. 加入 200 ul 无水乙醇，涡旋震荡充分混匀，短暂离心使管壁上的溶液收集到管底。
3. 将上一步所得的混合液加入一个吸附柱中 10000 rpm 离心 30 s，弃滤液，重新将吸附柱放回收集管中。
4. 向吸附柱中加入 500 ul Buffer WB1，10000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将吸附柱放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入 500 ul Buffer WB2，10000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将吸附柱放回收集管中。
6. 重复操作步骤 5 一次。
7. 将吸附柱 Spin Columns CG 放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，以尽量去除吸附膜上的乙醇。
8. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 Buffer EB 20 ~ 50 ul，室温放置 2 min，12000 rpm 离心 1 min，收集 DNA。(洗脱缓冲液体积不应少于 20 ul，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2 min，12000 rpm 离心 1 min。洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响。若用水作洗脱液应保证其 pH 值在 7.0 ~ 8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率)
9. 提取的 DNA 两周以内使用 4°C 保存，长期保存放到 -20°C。严禁反复冻融 (<3 次)。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。