

# SteadyPure 石蜡包埋组织 DNA 提取试剂盒

## SteadyPure FFPE DNA Extraction Kit

Code No. AG21031

**包装量:** 50 rxns  
**保存温度:** Package 2-1 -20°C  
 Package 2-2 室温(15 ~ 30°C)

### ➤ 产品概述

本产品采用环保脱蜡的方式去除石蜡，安全无毒。可从 3-8 张厚度为 5-10 μm 的石蜡切片、小于 30 mg 的石蜡块及小于 30 mg 福尔马林固定的组织样本中提取 DNA。采用优化的裂解体系释放石蜡样本中的 DNA，克服了福尔马林交联造成的抑制效应。使用本产品提取获得的 DNA 纯度高，质量稳定，可用于 PCR、qPCR、Southern 杂交、药物基因组学、二代测序等研究。

### ➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

**【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】**

如果缓冲液 Buffer LS-6、Buffer BS-4 或 Buffer WA 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

### ➤ 产品组成 \*1

Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
RNase A (10 mg/ml)	500 μl
Buffer DP	30 ml
Buffer LS-6	13 ml
Buffer BS-4	13 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB <sup>2</sup>	27 ml
Elution Buffer	20 ml
FFPE DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

\*1: Proteinase K (20 mg/ml) 和 RNase A (10 mg/ml) 包装于 Package 2-1 中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于 Package 2-2 中，室温 (15 ~ 30°C) 保存。

\*2: Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

### ➤ 实验前准备

1. 无水乙醇、1.5 ml 离心管、水浴锅、PBS。
2. 储存温度较低时，组分 Buffer LS-6、Buffer BS-4 可能出现沉淀，请于 37°C 加热溶解直至沉淀消失，再混合均匀后使用。
3. 洗脱结合在 FFPE DNA Mini Column 上的 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用，会提高 DNA 的洗脱效率。
4. Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

### ➤ 保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C 保存

Package 2-2 室温 (15-30°C) 保存

运输温度: Package 2-1 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

Package 2-2 室温运输

## ► 注意事项

1. 使用新鲜样品用于石蜡包埋组织切片的制备，可获得质量较高的 DNA，否则可能导致样本 DNA 降解，影响下游实验。
2. 石蜡包埋样本存放时间过长（例：将样本暴露于空气中1年）可能导致 DNA 完整性受损严重，影响下游实验。
3. 针对难以裂解的样本（如肌肉、趾骨等），可使用液氮进行研磨，研磨过程中需及时补充液氮，避免样本中的 DNA 降解。
4. 样本切勿超过最大上样量，且需充分裂解，避免堵塞 FFPE DNA Mini Columns，影响 DNA 收量及纯度。如果样本量较大，请适当增加试剂用量。
5. 本产品中 FFPE DNA Mini Columns 的最大加样体积为 750  $\mu$ l，使用时如果液体的体积超出最大加样体积，请使用多个 FFPE DNA Mini Columns 进行纯化，或分次加入：上样 750  $\mu$ l 混合液后，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤。
6. 操作过程中，FFPE DNA Mini Columns 的吸附柱需竖直从 Collection tubes 或 1.5 ml 的离心管中取出（或放入），避免吸附柱柱头触碰管壁，造成污染。
7. 提取的 DNA 需长期保存时，建议使用 Elution Buffer 溶出。

## ► 操作流程

### 样本处理步骤

根据样本的不同，选择合适的样本处理步骤，待“样本处理步骤”完成后，请立即进入后续操作步骤。



样本处理步骤

#### ◆ 石蜡切片

1. 取石蜡切片（5-10  $\mu$ m 厚，1 $\times$ 1 cm<sup>2</sup> 大小）3-8 张。
2. 使用手术刀刮取含有组织样本的石蜡装于 1.5 ml 离心管中，加入 600  $\mu$ l Buffer DP，高速涡旋振荡，使样本充分混匀。  
【注①：可使用手术刀碾压石蜡样本，使样本处于粉末状，有助于样本的脱蜡及裂解；  
②：针对难以裂解的样本（如肌肉、趾骨等），可使用液氮进行研磨。  
将石蜡样本转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织，直至研磨成粉末状，加入 600  $\mu$ l Buffer DP 至研钵中，继续研磨至溶液融化，再将组织和溶液全部转移至 1.5 ml 离心管中。】
3. 将上述混合液置于 56 $^{\circ}$ C 水浴加热 5 min，12,000 rpm 室温离心 2 min，弃上清。

#### ◆ 石蜡块

1. 使用手术刀从石蜡块中刮取小于 30 mg 的组织样本，尽可能去除多余的石蜡。
2. 将上述刮取的组织样本装于 1.5 ml 离心管中，加入 600  $\mu$ l Buffer DP，高速涡旋振荡，使样本充分混匀。  
【注①：可使用手术刀碾压石蜡样本，使样本处于粉末状，有助于样本的脱蜡及裂解；  
②：针对难以裂解的样本（如肌肉、趾骨等），可使用液氮进行研磨。  
将石蜡样本转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织，直至研磨成粉末状，加入 600  $\mu$ l Buffer DP 至研钵中，继续研磨至溶液融化，再将组织和溶液全部转移至 1.5 ml 离心管中。】
3. 将上述混合液置于 56 $^{\circ}$ C 水浴加热 5 min，12,000 rpm 室温离心 2 min，弃上清。

#### ◆ 福尔马林等固定液中的样本

1. 将样本从福尔马林等固定液中取出，取小于 30 mg 的样本装于 1.5 ml 离心管中，加入 500  $\mu$ l PBS 涡旋振荡混匀，清洗组织。  
【注：建议样本上样量不超过 30 mg，若样本上样量超过 30 mg，可适当增加 PBS 的用量直至覆盖样本即可。】
2. 将上述清洗完的组织样品转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织，直至研磨成粉末状。  
【注：研磨过程中需要不断向研钵中补充液氮，避免样本中的 DNA 被降解。】
3. 将小于 30 mg 已研磨成粉末状的组织样本转移至含有 500  $\mu$ l PBS 的 1.5 ml 离心管中，涡旋振荡，使样本充分混匀，12,000 rpm 室温离心 2 min，弃上清。

### 提取步骤

1. 向上述处理后的样本中加入 250  $\mu$ l 的 Buffer LS-6、20  $\mu$ l 的 Proteinase K (20 mg/ml)，高速涡旋振荡，使样本充分混匀，于 56°C 水浴加热 1 h，期间可多次颠倒混匀，以促进裂解。
2. 再于 90°C 水浴加热 1 h。
3. 水浴加热完成后，于室温放置 5 min，转移下部澄清液于新的 1.5 ml 离心管中，加入 10  $\mu$ l 的 RNase A (10 mg/ml)，涡旋混匀 30s，室温孵育 10 min。

**【注：溶液表面会漂浮一层石蜡，转移下部澄清液时应尽可能避免取到石蜡层，否则可能会影响 DNA 的纯度。】**

4. 向上述混合液中加入 250  $\mu$ l 的 Buffer BS-4，使用移液器充分吸打混匀。
5. 向上述混合液中加入 250  $\mu$ l 无水乙醇，使用移液器充分吸打混匀。



提取步骤

### 纯化步骤

1. 将上述溶液全量转移至 FFPE DNA Mini Column 中，室温静置 1 min，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
2. 向上述 FFPE DNA Mini Column 中加入 500  $\mu$ l 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
3. 向上述 FFPE DNA Mini Column 中加入 750  $\mu$ l 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。

**【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】**

4. 重复纯化步骤 3 一次。
5. 将上述 FFPE DNA Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection Tube 中，12,000 rpm 室温离心 2 min。
6. 将上述 FFPE DNA Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管中，在吸附膜的中央处加入 50  $\mu$ l ~ 100  $\mu$ l Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 2 min，然后 12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 DNA，获得的 DNA 可直接用于后续检测或置于 -20°C 保存。

**【注①：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用时有利于提高洗脱效率；如果想要获得更大收量的 DNA，可以将纯化步骤 6 中的洗脱液再次转移至 FFPE DNA Mini Column 中进行二次洗脱。**

**②：Elution Buffer 或灭菌水的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整，若需求较高浓度的 DNA，可适当降低 Elution Buffer 或灭菌水的添加量（例：30 ~ 50  $\mu$ l）。】**



离心、弃滤液



Buffer WA 洗一次  
Buffer WB 洗两次



洗脱

