

# FFPE样品DNA/RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.1)

## 产品说明

- ◇ 从FFPE（福尔马林固定的石蜡包埋的）组织切片中提取DNA和总RNA（包括small/microRNA）。
- ◇ DNA和RNA可以在一个体系中洗脱，或单独分开洗脱。得到的核酸可用于NGS、RT/qPCR等。

产品货号：

TR109- 50（50次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	2
产品描述	2
溶液制备	3
操作步骤	3
(I) 样品前处理	3
(II) DNA/RNA单独纯化步骤	4
(III) 总核酸纯化步骤	5
FAQ常见问题及解决办法	5
其他产品订购信息	6
组件查询	7

## 产品组份

试剂盒组成	50次	保存
蛋白酶K溶液	600 $\mu$ l	-20°C
DNase I	250U	-20°C
脱蜡液	20 ml	室温
2X消化液	5 ml	室温
DNA消化液	4 ml	室温
DNA/RNA裂解液	50 ml	室温
DNA/RNA预洗液	25 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	2X24 ml	室温
无DNase/RNase水	30 ml	室温
2号CR纯化柱	100个	室温
2ml收集管	150个	室温

## 注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。
- ◇ RNA提取，防RNase污染:
  1. 更换新手套。皮肤表层附着微生物，可能导致RNase污染。
  2. 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。玻璃器皿可在150°C烘烤4h；塑料器皿可在0.5MNaOH中浸泡10min,用水彻底清洗。灭菌后，即可去除RNase。
  3. 配制溶液应使用无DNase/RNase水。(将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(v/v),混匀后放置过夜，高压灭菌)

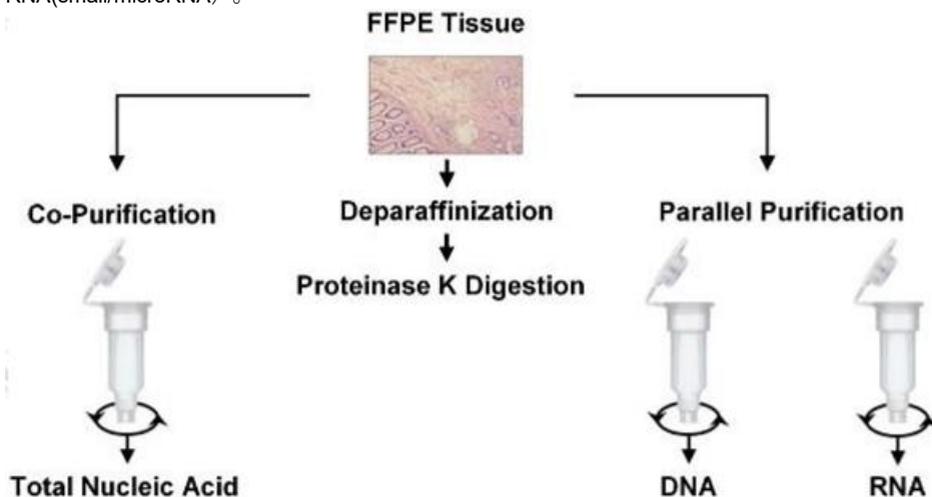
## 产品特性

- ✧ 样本来源-从石蜡块中提取的组织可达25mg，或者总表面积约为20mm<sup>2</sup>的4张组织切片（厚度≤ 20μm）。建议：初次进行推荐使用1-2张切片。
- ✧ 兼容性-也可以处理新鲜或冰冻组织标本。
- ✧ 大小-DNA和总RNA（≥17核苷酸）。
- ✧ 纯度-A260/A280和A260/A230>1.8。DNA和RNA适用于下一代测序、RT/qPCR等。
- ✧ 结合能力-2号CR纯化柱可回收最多50μg的DNA/RNA。
- ✧ 洗脱体积≥25μl无DNase/RNase水。
- ✧ 需要的设备（用户提供）-离心机、涡旋仪、加热块、水浴或培养箱

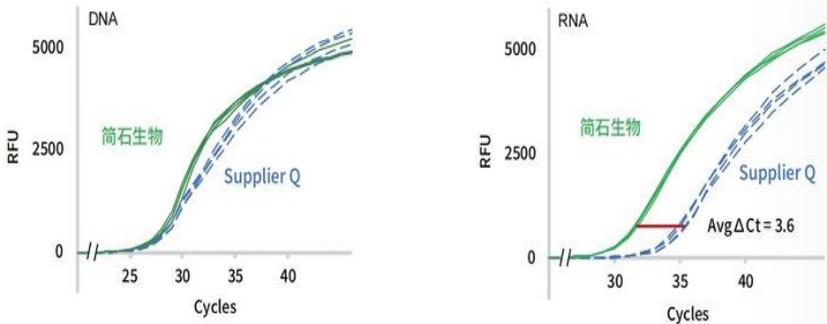
## 产品描述：

FFPE样品DNA/RNA提取试剂盒提供了一种简单可靠的方法，可以从同一份福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）组织样本中，一次洗脱得到总核酸（DNA和RNA），或分两个步骤单独洗脱出DNA/RNA。

只需使用脱蜡液去除石蜡，使用蛋白酶K消化，加热以解除化学交联，然后使用2号CR纯化柱进行纯化。该产品的独特化学配方经过优化，可最大程度地回收DNA以及总RNA(small/microRNA)。



## 1、高回收率



用FFPE DNA/RNA提取试剂盒提取的DNA和RNA质量较高，并优于供应商Q试剂盒 (Avg  $\Delta$ Ct=3.6) 所描述的RT-PCR扩增曲线 (n=4) 中的RNA。  
溶液制备：

蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20°C长期保存。但室温可保存12个月（注：若试剂盒内是溶液状蛋白酶K则无需此步，新配方的溶液蛋白酶K在室温下可放置12个月）添加96ml 100%乙醇（或104ml 95%乙醇）到24ml的DNA/RNA洗涤液中。添加275 $\mu$ l的无DNase/RNase水到每管的DNase I中,混匀后DNase I的浓度为1U/ $\mu$ l。

## 操作步骤：

整个操作步骤是由3个步骤组成：(I) 样品前处理、(II) DNA/RNA单独纯化步骤、(III) 总核酸纯化步骤。

\*所有步骤的离心力均在 10, 000-16, 000xg 下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温下 (20-30°C) 下操作除非特殊说明。

### (I) 样品前处理

#### 脱蜡

1. 尽可能多的从组织上去除石蜡，然后将样品放置到 1.5ml 离心管内。  
最多处理25mg石蜡块中的组织或者最多4个组织切片（总表面积20mm<sup>2</sup>）建议处理1-2个切片。
2. 添加 400 $\mu$ l 的脱蜡液到样品中。在 55°C下孵育 1 分钟，短暂涡旋。
3. 去除脱蜡液，然后对下一个切片进行相同处理。

#### 组织消化

1. 针对离心管中去除了脱蜡液的组织样品 ( $\leq$ 25mg)，添加以下混合物：

无 DNase/RNase 水	95 $\mu$ l
2X 消化液	95 $\mu$ l

蛋白酶 K	10 $\mu$ l
-------	------------

2. 在55°C下，若为显微切割样品育1小时，若为组织块则孵育4小时。

注：对于体积较大的组织，推荐消化时间为4小时。

3. 消化之后，将温度调至94°C并且孵育20分钟，以防止样品交联。

4. 以下步骤是针对DNA提取，RNA提取，DNA和RNA共同提取的三种不同体系。

#### (II) DNA/RNA单独纯化步骤

\*所有步骤的离心力均在10,000-16,000xg下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温（20-30°C）下操作，除非特殊说明。

1. 添加600 $\mu$ l的DNA/RNA裂解液到脱蜡和消化后的组织中，混匀。最大速离心1分钟去除不溶物。
2. 将上清转移至2号CR纯化柱中，2号CR纯化柱套在一个收集管里，离心。保存滤出液。

DNA纯化步骤 (DNA结合在纯化柱上)	RNA纯化步骤 (RNA在滤出液中)
3.将2号CR纯化柱套在一个新的收集管内。	3.添加1体积的（95-100%）无水乙醇到上述滤出液中混匀，将混合物移至一个新的2号CR中，2号CR纯化柱套在一个新的收集管中，离心，去除滤出液。此时RNA已经结合到纯化柱上，并且可以采用柱上消化的方式进行DNaseI消化（见附录）。

4. 添加400 $\mu$ l的DNA/RNA预洗液到2号CR纯化柱中，离心，去除滤出液。
5. 添加700 $\mu$ l的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心，去除滤出液。
6. 添加400 $\mu$ l的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心2分钟去除洗涤液残留。
7. 将2号CR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加 $\geq$ 50 $\mu$ l的无DNase/RNase水到纯化柱基质上，室温下放置1-2分钟。离心，洗脱DNA或RNA。

#### 附录:柱上DNaseI消化处理:

此步骤主要是为了去除痕量的DNA。

- a) 添加400 $\mu$ l的DNA/RNA洗涤液到纯化柱上，离心。去除滤出液。
- b) 对于每一次的样品处理需要制备80 $\mu$ l的DNaseI反应液。配比为DNaseI5 $\mu$ l,DNA消化液75 $\mu$ l。
- c) 直接添加80 $\mu$ l的DNaseI反应液到纯化柱上，在室温（20-30°C）下孵育15分钟。

然后进行第4步继续处理后面的步骤。

### (III) 总核酸纯化步骤

\*所有步骤的离心力均在 10, 000-16, 000xg 下离心30秒除非特殊说明。

\*所有步骤均在室温下 (20-30°C) 下操作除非特殊说明。

1. 添加600µl的DNA/RNA裂解液到脱蜡和消化后的组织中，混匀。最大速离心1分钟去除不溶物。将上清转移到一个新的离心管内。
2. 添加1体积的 (95-100%) 无水乙醇到样品中混匀。
3. 将混合物移至一个2号CR纯化柱中，2号CR纯化柱套在一个新的收集管中，离心，去除滤出液。
4. 添加400µl的DNA/RNA预洗液到2号CR纯化柱中，离心，去除滤出液。
5. 添加700µl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心，去除滤出液。
6. 添加400µl的DNA/RNA洗涤液到2号CR纯化柱中，离心2分钟，去除洗涤液残留。
7. 将2号CR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加≥50µl的无DNase/RNase水到纯化柱基质上，室温下放置1-2分钟。离心，洗脱DNA和RNA。

## FAQ常见问题及解决方法询

Q, 问题	A,可能的原因和建议的解决方案
是否需要DNaseI处理；溶解后的DNaseI如何保存	1.简石生物提供的DNaseI套件 (DNase和DNA消化液) 的目录号是TE1010；如果下游应用需要无DNA的RNA，我们建议柱上做DNaseI处理，后续洗涤可去除片段化的DNA，避免浓度虚高。2.冻干DNaseI在室温下比较稳定。液体悬浮后，可选择冷冻储存(-20°C) 等分试样。尽可能减少冻融循环。冻融会降低酶活性。
如何提高纯度，RIN/DIN值并消除污染？（及A260/230,A260/280比率，DNA,苯酚，蛋白质，盐等）	任何类型的污染都可能由初始样品制备（即样品裂解效率低下）引起。需要优化/增加裂解试剂的体积（例如，TRI试剂/TRIzol/TRIcom或DNA/RNA裂解液）。
如何提高核酸产量？	1.FFPE样品保存条件较为特殊，尤其是RNA的降解程度相对较高。前处理很重要，确保无蜡片残留，组织完全裂解，增加裂解试剂的体积（即增加或滴定TRI试剂/TRIzol/TRIcom或DNA/RNA裂解缓冲液的体积）。2.裂解物应透明（不透明或粘稠）。通过离心（如果需要）沉淀碎片并处理澄清的上清液

## 其他产品订购信息

DNA/RNA保护剂 (EZShied®)		
TR110	DNA/RNA保护剂 (EZShied®) -固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA保护剂 (EZShied®) -液体样品保护剂	瓶
TS001-TS010	各类样品的采样套装 (含RNA保护剂)	套
难以裂解样品- 辅助耗材和设备		
TS6003	植物/动物组织-裂解管 (2.0 mm)	50支/包
TS6012	微生物--裂解管 (0.1 + 0.5 mm)	50支/包
TS6014	组织/昆虫中的微生物--裂解管 (0.1 + 2.0 mm)	50支/包
TI2019	样品研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织DNA提取	1台
T9548R	冷冻研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织RNA提取	1台
TI2023-24	样品均质仪 (“8”字旋转常温款) -适合微生物DNA	1台
TI2023-24R	冷冻样品均质仪 (“8”字旋转低温款) -微生物RNA	1台
RNA提取纯化系列		
总RNA快速提取试剂盒 (从TRizo®裂解物中提取)		
TR199	LS液体样本总RNA提取试剂 (TRIcom Reagent)	50/100ml
TR201	总RNA提取试剂 (TRIcom Reagent)	50/100ml
TR205	少量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TR206	微量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TB210	总RNA提取试剂盒 (配合 TRIZOL®磁珠法)	32/96次
少量总RNA提取试剂盒 (任何样品的RNA提取纯化)		
TR150	快速RNA微量提取试剂盒-10	50/200次
TR154	快速RNA/少量提取试剂盒-100	50/200次
TR134	病毒RNA提取试剂盒	50/200次
TR202	环境样品通用DNA/RNA提取试剂盒	50次
TR121	全血RNA提取试剂盒 (DNA/RNA保护剂)	50次
TR108	FFPE样品RNA提取试剂盒	50次
TR159	血清血浆cfRNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TR225	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TB226	多糖多酚植物RNA提取试剂盒(磁珠法)	48次
RNA-Seq (RNA建库产品)		
R3000	Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit	12/96次

## 组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶K溶液	TD3001-2-0.6	600 $\mu$ l	-20°C
DNase I	TE1009-A	250U	-20°C
脱蜡液	TD3067-1-20	20 ml	室温
2X消化液	TD3050-1-5	5 ml	室温
DNA消化液	TE1010-1-4	4 ml	室温
DNA/RNA 裂解液	TD7001-1-50	50 ml	室温
DNA/RNA 预洗液	TD7010-2-25	25 ml	室温
DNA/RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	TD7010-3-24	24 ml	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-30	30 ml	室温
2号 CR 纯化柱	TC1078-50	50个	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温