



CWE2100 FFPE DNA Kit (Auto Plate)

CWE2100 磁珠法固定组织DNA提取试剂盒 (预装型)

目录号：CW3060S (96 preps)

保存条件：室温 (15-30°C)

产品内容

Component	CW3060S 96 preps
96 DW Auto Plate	6 Plates
8 channel Comb	12 Strips
Buffer GTL	30 mL
Buffer GL	30 mL
Buffer DS	25mL
Proteinase K	2×25 mg
Proteinase K Storage Buffer	2×1.25 mL
RNase A (100 mg/ml)	0.3 mL

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从石蜡包埋组织中提取DNA的方法。实验过程中可采取无毒的脱蜡剂去除石蜡，降低实验过程中对实验者的危害。组织裂解后，DNA结合于硅基包被磁珠表面。漂洗后，高纯度的DNA洗脱于EB或去离子水中。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。DNA的得率、片段大小与样品类型、储存条件及储存时间有很大关系。

自备仪器、试剂

康为CWE3200全自动核酸提取仪，或其他全自动核酸提取仪。

实验前准备及重要注意事项

1. 获得样品后，要尽快将样品在4%-10%的福尔马林中固定，固定时间以14-24小时为宜，时间过长易导致基因组断裂，影响下游实验。如果甲醛固定时间过长或样本存放时间过久（>1年）则易导致DNA完整性受损，无法扩出长片段。
2. 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制Proteinase K的作用。
3. 向Proteinase K中加入1.25 mL Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，以免影响其活性。
4. 使用前请检查Buffer GTL、Buffer GL和Buffer DS是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GTL、Buffer GL和Buffer DS于56℃水浴重新溶解。
5. 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在加入Buffer GL前加入2 μL DNase-Free的RNase A（100 mg/mL），试剂盒中的RNase A如果长时间不用，建议-20℃保存。
6. 实验开始前将水浴锅或恒温混匀仪预热至56℃。

操作步骤

产品与全自动核酸提取仪匹配后可一次性从1-32份样本中提取DNA。

一、石蜡包埋样本：

1. 用手术刀将组织块中多余的石蜡修剪掉，露出组织后切成5-10 μm 的薄片。
2. 取约1 \times 1 cm^2 的切片（共约3-8片切片）置于离心管（自备）中，加入160 μL Buffer DS，涡旋震荡10秒。短暂离心将样本收集到管底，56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育3分钟，水浴锅中取出后静置，降至室温后进行下一步操作。

注意：如果样品表面暴露在空气中，最初的2-3片弃掉不用。

3. 向上述管中加入180 μL Buffer GTL，涡旋震荡混匀，12,000 rpm离心1分钟，溶液分为两层。取20 μL Proteinase K加入到下层溶液中，用移液器小心吹吸混匀。
4. 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1小时，直至样品完全溶解。90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1小时。样品室温静置30秒后25 $^{\circ}\text{C}$ 、12,000 rpm离心1分钟，使用200 μL 枪头沿管壁小心吸取下层的水相（Lysate）于新的离心管中，尽量避免吸入蜡液或者沉淀。

注意：1) 此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育的温度过高或时间过长可能造成DNA断裂，产生DNA碎片。

2) 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育后的样品可置于室温，直至水浴锅或干浴锅温度达到90 $^{\circ}\text{C}$ 后再把样品置于90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育。

3) 如需除去RNA，可将Lysate温度降到室温后，加入2 μL 浓度为100 mg/ml的RNase A溶液，震荡混匀，室温放置2分钟。

二、福尔马林等固定液中的样本

1. 取约20 mg的样本，切成小块，置于离心管中，加入500 μL 10mM PBS（PH 7.4），涡旋振荡，12,000 rpm（ \sim 13,400 $\times g$ ）离心1分钟，弃上清，重复3次。
2. 向上述离心管中加入180 μL Buffer GTL，20 μL Proteinase K，涡旋震荡混匀。
3. 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1小时，直至样品完全溶解。90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1小时。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

注意：1) 此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育的温度过高或时间过长可能造成DNA断裂，产生DNA碎片。

2) 56 $^{\circ}\text{C}$ 孵育后的样品可置于室温，直至水浴锅或干浴锅温度达到90 $^{\circ}\text{C}$ 后再把样品置于90 $^{\circ}\text{C}$ 孵育。

4. 12,000 rpm离心1分钟，使用200 μL 枪头沿管壁小心吸取上清（Lysate）到新的离心管中。

注意：如需除去RNA，可将裂解产物温度降到室温后，加入2 μL 浓度为100 mg/mL的RNA酶A溶液，震荡混匀，室温放置2分钟。

与CWE2100/CWE3200的匹配

1. 向上述所得Lysate中加入200 μL Buffer GL，涡旋振荡20 s。再分别加入到96深孔板的第1和7列。
2. 将8联深孔磁套与96孔深孔板放入CWE2100/CWE3200中，运行程序。
3. 约30分钟后程序运行结束，将96孔深孔板和8联深孔磁套从仪器中取出，把第6和12列中的洗脱产物转移至离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。