

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

# SPARKeasy FFPE DNA Kit

## 固定包埋组织DNA快速提取试剂盒

### (离心柱型)

目录号: AA1601、AA1602

## 01/产品组分

| 序号 | 组分                     | 50 次<br>AA1601-A  | 100 次<br>AA1601-B | 50 次<br>AA1602-A | 100 次<br>AA1602-B |
|----|------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| 1  | 平衡液                    | 5 mL              | 10 mL             | 5 mL             | 10 mL             |
| 2  | 裂解液 FTL                | 11 mL             | 20 mL             | 11 mL            | 20 mL             |
| 3  | 结合液 CB                 | 11 mL             | 20 mL             | 11 mL            | 20 mL             |
| 4  | 抑制物去除液 IR              | 25 mL             | 50 mL             | 25 mL            | 50 mL             |
| 5  | 漂洗液 WB                 | 15 mL             | 25 mL             | 15 mL            | 25 mL             |
|    |                        | 第一次使用前按说明加指定量无水乙醇 |                   |                  |                   |
| 6  | 洗脱缓冲液 EB               | 15 mL             | 15 mL             | 15 mL            | 15 mL             |
| 7  | 蛋白酶 K 溶液<br>(20 mg/mL) | -                 | -                 | 1.5 mL           | 3 mL              |
| 8  | 吸附柱 AC                 | 50 个              | 100 个             | 50 个             | 100 个             |
| 9  | 收集管 (2 mL)             | 50 个              | 100 个             | 50 个             | 100 个             |

## 02/保存条件

蛋白酶 K 溶液于-20 °C 保存, 其它组分室温 (15-25 °C) 保存。

## 03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取各种福尔马林固定和石蜡包埋组织基因组 DNA, 可在 3 h 内完成单个或多个样本的提取工作。福尔马林固定或者石蜡包埋组织通过独特裂解液热处理和蛋白酶 K 共同作用迅速裂解细胞释放出基因组 DNA, 然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗、离心的步骤, 进一步将细胞代谢物、蛋白等杂质去除, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

## 04/自备材料

异丙醇、乙醇（需要准备 100%/80%/60%/40%不同浓度）、二甲苯、去离子水

## 05/注意事项

### **请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项**

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 开始实验前根据需要将水浴预热到 37℃ 备用。
- ◇ 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 关于平衡液的使用：取一个新的硅胶膜吸附柱装在收集管中，取 100 μL 的平衡液至吸附柱中。12,500 rpm（14,500×g）离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管。此时平衡液预处理吸附柱完毕。平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37℃ 使沉淀完全消失。

## 06/使用方案

1. 将组织切片放入离心管，浸泡在二甲苯中脱蜡约 30 min（具体时间根据切片厚度调整）。
2. 将切片依次放入 100%乙醇/80%乙醇/60%乙醇/40%乙醇/去离子水，每个液体中浸泡 10 s 重新水化切片。
  - ▲ 刚放入 100%乙醇时，应该见到切片变白。
3. 显微镜观察下，用刀片切下拟提取 DNA 的目标组织，放入预先称重的 1.5 mL 离心管中，再次称重，计算出切片组织重量。
4. 在 25-50 mg 组织中加入 200 μL 裂解液 FTL，再加入 20 μL 的蛋白酶 K 溶液（20 mg/mL），立即混匀后置 37℃ 水浴过夜。
5. 再加入 10 μL 的蛋白酶 K 溶液（20 mg/mL），混匀后 55℃ 水浴 1-2 h。
  - ▲ 此步骤后，不应该见到粗大的组织颗粒。
6. 加入 200 μL 结合液 CB，立刻涡旋振荡 20 s 充分混匀后置 70℃ 水浴 10 min。
7. 冷却后加入 100 μL 异丙醇，立刻涡旋振荡 30 s 充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
8. 用 1 mL 的枪头吸取混合物，将混合物加入一个用平衡液处理过的吸附柱 AC 中（吸附柱放入收集管中），12,500 rpm（14,500×g）离心 60 s，倒掉收集管中的废液。
  - ▲ 如果有不溶组织物可能堵住枪头，可将枪头在吸水纸上轻蹭去除不溶物；如果吸上来的混合物少则可以将枪头和不溶物一起弃去，该做法是为了去除不溶物，以免堵塞离心柱。
9. 加入 500 μL 抑制物去除液 IR，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 s，弃废液。

10. 加入600  $\mu$ L漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液，重复此步骤一遍。
  11. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,500 rpm（14,500 $\times$ g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
  12. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加100  $\mu$ L洗脱缓冲液EB（事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。
- ▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于50  $\mu$ L，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
13. DNA可以存放在2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在-20 $^{\circ}$ C。

## 07/流程简图



脱蜡：二甲苯脱蜡30 min，依次放入100%乙醇/80%乙醇/60%乙醇/40%乙醇/去离子水，水化各10 s

裂解：25-50 mg组织，200  $\mu$ L裂解液FTL，20  $\mu$ L蛋白酶K 37 $^{\circ}$ C过夜  
10  $\mu$ L蛋白酶K，55 $^{\circ}$ C水浴1-2 h  
200  $\mu$ L结合液CB，70 $^{\circ}$ C水浴10 min

结合：100  $\mu$ L异丙醇，100  $\mu$ L平衡液至吸附柱AC  
将混合物加入预处理的吸附柱AC，14,500 $\times$ g 离心60 s

去抑制物：500  $\mu$ L抑制物去除液IR，13,400 $\times$ g离心30 s  
去盐离子：600  $\mu$ L漂洗液WB（检查是否已加入无水乙醇！）  
13,400 $\times$ g离心30 s，两次  
去残留乙醇：14,500 $\times$ g空甩2 min

洗脱：100  $\mu$ L洗脱液EB（65-70 $^{\circ}$ C预热）  
室温静置3-5 min，13,400 $\times$ g离心1 min  
可重复洗脱一次，长期储存-20 $^{\circ}$ C

## 08/相关产品

AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)

EE0001 4%多聚甲醛

EE0007 内源性过氧化物酶封闭液

EE0012 苏木素伊红 (HE) 染色试剂盒

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

