

BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法)

产品编号	产品名称	包装
D0089S	BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次

产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法) (BeyoMag™ Paraffin-embedded Tissue Genomic DNA Purification Kit with Magnetic Beads), 也称磁珠法石蜡包埋组织基因组DNA提取试剂盒、磁珠法包埋组织DNA抽提试剂盒、磁珠法FFPE组织基因组DNA抽提试剂盒等, 是一种采用环保脱蜡方式去除石蜡后抽提DNA的试剂盒。抽提获得的DNA可以应用于PCR、qPCR或基因组学研究等下游实验。
- 福尔马林固定石蜡包埋(Formalin fixation and paraffin embedding, FFPE), 常应用于癌症等疾病研究中保存离体组织的形态学和组织学结构, 以便于运输和储存, 是病理样品长期保存的主要方法之一[1]。组织样品经福尔马林固定时, 组织内细胞中的核酸和蛋白质等分子间随机交联, 核酸出现片段化, 因此难以获得高质量核酸。本试剂盒采用环保脱蜡法去除石蜡, 以特殊的裂解条件释放FFPE组织样本中的DNA分子, 最大程度地降低了福尔马林固定时组织内细胞中DNA与其它分子交联的不利影响, 经本试剂盒抽提获得的DNA纯度高、完整性好、质量稳定。
- 本试剂盒抽提DNA的实验流程如图1所示。首先使用环保的脱蜡剂和蛋白酶K将FFPE样品脱蜡、消化, 释放出来的基因组DNA在特定条件下与磁珠特异性结合。在外界磁场(如磁分离架)的作用下, 磁珠与相应溶液可以快速高效地分离。随后通过三次洗涤去除各种杂质, 最后通过洗脱液把DNA洗脱下来。

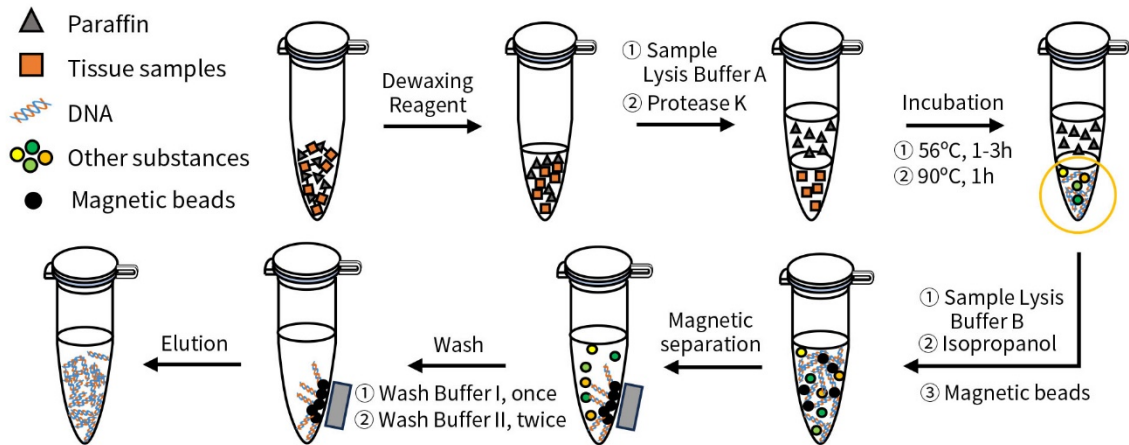


图1. 碧云天BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法) (D0089)的实验流程图。

- 本试剂盒抽提获得的石蜡包埋组织样品基因组DNA纯度高。通过本试剂盒抽提获得的DNA A260/A280的范围通常在1.6-1.9之间。本试剂盒的抽提效果参见图2。

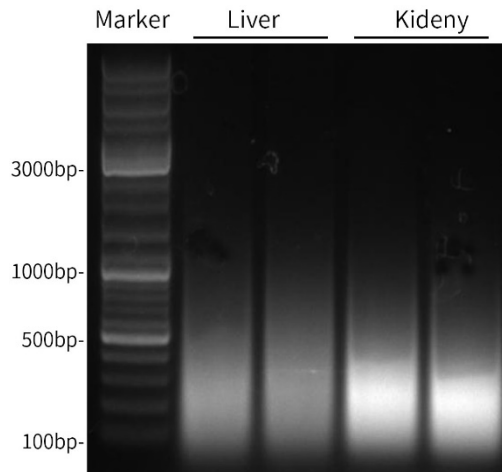


图2. 碧云天BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法) (D0089)的DNA抽提效果图。样品为小鼠肝脏和肾脏组织石

蜡切片，样品用量为8片10 μ m厚切片。抽提后洗脱体积均为100 μ l，取10 μ l的洗脱样品与2 μ l BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)(D0072)混合均匀后，在1%琼脂糖凝胶中电泳30分钟后拍照。注：抽提得到的基因组DNA经RNase A处理。实际结果会因样品、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- **本试剂盒使用安全、高效。**本试剂盒通过特殊的磁珠进行DNA分离纯化，能有效避免常规方法抽提DNA时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒操作快速、便捷。**本试剂盒采用磁珠纯化，无需繁琐的DNA沉淀和离心步骤，纯化DNA操作过程仅需约15分钟即可完成。和国外同类产品相比，所需操作步骤和操作时间基本一致。碧云天同时提供石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)(D0064)。
- 本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的总DNA含有少量RNA，但如果按照可选步骤加入RNase A，就可以获得不含RNA的高纯度总DNA。
- 本试剂盒小包装可用于50个样品的总DNA抽提。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D0089S-1	脱蜡剂	50ml
D0089S-2	样品裂解液A	10ml
D0089S-3	样品裂解液B	11ml
D0089S-4	洗涤液I (首次使用前加17ml无水乙醇)	13ml (+17ml)
D0089S-5	洗涤液II (首次使用前加39ml无水乙醇)	26ml (+39ml)
D0089S-6	洗脱液	11ml
D0089S-7	蛋白酶K	1.1ml
D0089S-8	BeyoMag™磁珠	1ml
—	说明书	1份

保存条件：

蛋白酶K -20 $^{\circ}$ C保存，其余均室温保存，一年有效。其中BeyoMag™磁珠长期不使用时，可以4 $^{\circ}$ C保存，4 $^{\circ}$ C可以保存更长时间。蛋白酶K室温(15-25 $^{\circ}$ C)存放一周，活力无明显下降。

注意事项：

- 如果希望获得更高质量的DNA，宜尽量使用新鲜固定和包埋的组织样品。拿到组织样品后尽快在4-10%福尔马林中固定，固定时间最好在8-24小时之间或更短时间，长时间固定会使DNA断裂更为严重。
- 样品包埋前应确保彻底脱水，残留的甲醛可能抑制蛋白酶K的消化等相关实验步骤。
- 本试剂盒抽提DNA依赖于样品类型、储存时间以及固定条件。样品固定时间和保存时间过长(>1年)易破坏DNA完整性，无法抽提出长片段。
- 如需制备不含RNA的高纯度总DNA，需自备RNase A，推荐使用碧云天的RNase A (100mg/ml, DNase free) (ST577)。
- 温度较低时样品裂解液A或样品裂解液B中可能会有沉淀产生，属正常现象。使用前必须检查一遍，如有沉淀，55 $^{\circ}$ C水浴孵育使沉淀溶解，混匀后使用。
- **第一次使用前小包装洗涤液I需添加17ml无水乙醇，洗涤液II需添加39ml无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。**
- 本试剂盒须将FFPE样品56 $^{\circ}$ C和90 $^{\circ}$ C孵育，推荐使用碧云天的BeyoBath™干式恒温金属浴(1.5/2ml \times 40) (E6662)。
- 使用本试剂盒须提前备好无水乙醇和异丙醇。
- 除特别说明外，每次Vortex应控制在5-10秒左右，推荐使用碧云天的BeyoVortex™调速式涡旋混匀仪(E6699)或BeyoVortex™基础型涡旋混匀仪(E6788)。
- 本试剂盒需自备磁分离装置，推荐使用碧云天的1.5/2ml磁分离架(FMS004/FMS008/FMS012/FMS016/FMS024)。
- 磁珠在静置后会发生沉降，使用前一定要适当涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。
- 磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象，可以在磁珠聚集后晃动管内液体，使挂壁的磁珠流下。
- 请使用推荐的样品量。如果样品量过大，可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响抽提获得的DNA纯度。发生磁珠聚集时，洗涤时需尽量分散磁珠，这样可有效改善抽提效果。如果发生磁珠聚集现象，建议在后续实验中适当减少样品用量。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品处理。

- a. **石蜡包埋组织蜡块：手术刀切或刮取约10-25mg的组织样品(尽量去除组织周围的石蜡块)。**
较小的组织碎片会使裂解速度加快，裂解效率提高。

- b. 石蜡包埋组织切片：取5-8张的石蜡切片(5-10 μ m厚，表面积小于1 \times 1cm²)。
如果样品表面暴露于空气中，尽量避免使用。
- c. 福尔马林固定组织：取10-25mg福尔马林固定液中的组织，用手术刀充分切碎后，置于1.5ml离心管中，加入500 μ l的PBS pH7.4 (DNase, RNase & Protease free, Sterile) (ST478), Vortex震荡混匀，12,000 \times g离心1分钟后充分去除上清，再重复清洗2次，然后从步骤2b开始操作。

2. 脱蜡和裂解。

- a. 将石蜡块样品或者石蜡切片置于1.5ml离心管中，加入600 μ l的脱蜡剂，剧烈Vortex 30秒，以充分脱蜡。
福尔马林固定液中的组织样品无需加脱蜡剂，直接转入步骤2b开始操作；如果石蜡样品过多，可以将脱蜡剂用量增加至1ml。
- b. 加入180 μ l样品裂解液A和20 μ l蛋白酶K，Vortex混匀，56 $^{\circ}$ C金属浴或水浴孵育1小时或直至样品完全裂解。
裂解过程中可多次从金属浴中取出离心管颠倒混匀以促进裂解。裂解的时间因组织不同而有所不同，通常可在1-3小时内完成。为方便起见，可以直接过夜裂解，过夜裂解对DNA抽提效果通常无负面影响。
- c. 将完全裂解的组织样品置于90 $^{\circ}$ C孵育1小时，之后短暂离心使盖子上的蒸发液体回到管中。
90 $^{\circ}$ C孵育对解开DNA与其它分子的交联至关重要，但是必须严格控制孵育的温度和时间，否则可能产生更多的DNA碎片，因此应先将金属浴或水浴加温至90 $^{\circ}$ C再放入样品进行孵育。
- d. 将离心后的离心管室温静置5分钟，用吸头缓慢穿过上层脱蜡剂，吸取下层的澄清液体(约180 μ l)至新的离心管中。
- e. 清除RNA(可选做)。如果希望获得不含RNA的高纯度DNA，加入2 μ l的RNase A (100mg/ml, DNase free) (ST577), Vortex混匀。室温放置2分钟后，进行下一步操作。
如果残余的少量RNA对后续下游实验没有干扰，可以不进行本步实验操作，直接进入步骤2f。
- f. 向上述新的离心管中加入200 μ l样品裂解液B，Vortex混匀；再加入400 μ l异丙醇，Vortex混匀。
加入样品裂解液B后可能会产生白色沉淀，需立即Vortex混匀，但不会干扰后续实验；加入异丙醇后也可能产生白色沉淀，必须Vortex充分混匀，后续步骤中必须把白色沉淀和溶液全部用于和磁珠的结合，沉淀不会影响抽提效果。

3. 纯化DNA。

- a. 向步骤2f中的混合溶液加入20 μ l BeyoMag™磁珠悬液(使用前务必混匀)，轻柔混匀后，室温放置3-5分钟。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。
磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量或延长结合时间以提高得率。
注：必须将步骤2f中的溶液和白色沉淀全部用于和磁珠结合，否则会严重影响抽提效果！
- b. 加入500 μ l洗涤液 I，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。
- c. 加入600 μ l洗涤液 II，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。
- d. 重复步骤3c一次。
- e. 将离心管室温放置5-10分钟，或置于37 $^{\circ}$ C鼓风烘箱5分钟，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。
- f. 加入50-100 μ l洗脱液，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育3-5分钟，其间甩动离心管1-2次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于-20 $^{\circ}$ C保存。所得溶液即为纯化的总DNA。
如果有必要，可以使用去离子水洗脱DNA，洗脱液的pH对洗脱效率有很大影响，使用去离子水洗脱时应保证其pH值在7.0-8.5之间。使用较小体积的洗脱液可以使获得的总DNA的浓度较高，但洗脱下来的DNA量相对较少。如果对于获得较多量的DNA非常重要，可以在第一次洗脱后，再用同体积洗脱液重复洗脱一次，第二次洗脱可增加DNA洗脱量，但会降低洗脱DNA的浓度。或将洗脱后的得到溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次。经65 $^{\circ}$ C预热过的洗脱液可增加DNA的洗脱量。

参考文献：

1. Lee H, Ryu HS, Park HC, et al. Int J Mol Sci. 2022. 23(21):12923.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0061	哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒	50次
D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式)	50次
D0064S	石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
D0065	动物基因组DNA快速抽提试剂盒(PCR分析用)	100次/500次
D0072	BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0085	BeyoMag™磁珠法Cell-free DNA抽提试剂盒	50次/200次
D0088S	BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法)	50次
D0089S	BeyoMag™石蜡包埋组织基因组DNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次
D0091	BeyoMag™磁珠法血液基因组DNA抽提试剂盒	50次/200次/800次
FTUB306	BeyoGold™ 1.5毫升离心管(无色, Nuclease free)	500个/盒, 10盒/箱
ST478-500ml	PBS, pH7.4 (DNase, RNase & Protease free, Sterile)	500ml
ST533	Proteinase K (20mg/ml)	0.2ml/1ml/5ml
ST535	Proteinase K	100mg/500mg/2g
ST576	RNase A (10mg/ml, DNase free)	1ml

ST577	RNase A (100mg/ml, DNase free)	0.5ml
ST975	环保脱蜡剂(二甲苯替代品)	50ml/250ml/1L
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS154	BeyoMag™磁分离架(4孔, 15ml, 蓝)	1个/盒
FMS504	BeyoMag™磁分离架(4孔, 50ml, 蓝)	1个/盒
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS015	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS025	BeyoMag™磁分离架(24孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒

Version 2024.06.07