

如何实现 FFPE 组织样品 DNA 和 RNA 的全自动纯化

FFPE 简而言之就是使用福尔马林固定石蜡包埋处理的样本 (Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded) 它可以在常温保留很久, 所以对肿瘤组织进行石蜡包埋保存就成了医院里最常用的样本储存手段。福尔马林的固定容易使组织中的核酸发生不同程度的降解和分子间的交联, 石蜡的高温渗入过程进一步加速核酸的降解, 保存的时间及环境对样品中的核酸也有巨大的影响, 从石蜡切片中提取出高质量基因组, 并构建出信息完整、无偏好、可用于后续各类组学研究的文库, 则是“头痛”的难题。

FFPE 样本制备、提取及分析流程如下:



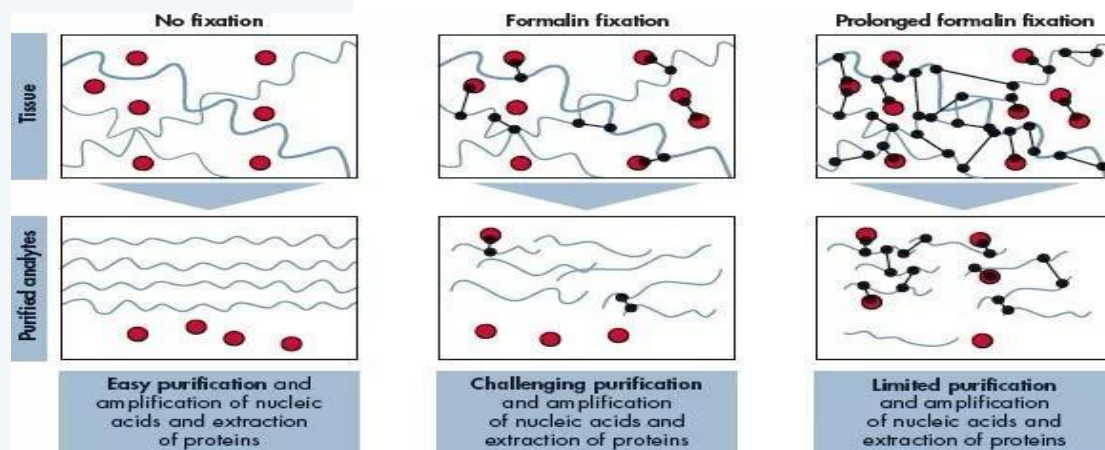
一. 样本制备

1. 样本采集

每种组织都有其特定的生理功能, 并就其结构和组成细胞而言是独特的。取决于组织类型, 收获后生物分子降解、诱导或修饰的速度可能各异。从病人身上获得组织标本的手术涉及麻醉、血管结扎、组织的切除以及固定。从病人麻醉到组织固定这段时间内, 组织中的基因表达可能发生变化, 且可能发生组织自溶。同一个组织样品中一块切片的分析结果可能与另一块切片不同。

2. 福尔马林固定

组织的固定是将标本放在福尔马林溶液中, 此溶液的组分可能有所差异 (典型的 10% 福尔马林溶液可能含有 3.7% 甲醛以及 1-1.5% 甲醇)。产生的化学反应导致生物分子之间的交联, 包括核酸之间、蛋白之间, 以及核酸和蛋白之间的交联。为了获得最佳的结果, 应当使用中性的福尔马林缓冲溶液, 以取代无缓冲或酸性的溶液。中性缓冲液减缓福尔马林的降解, 而通常认为其降解产物会损害核酸的质量。



3. 石蜡包埋

在福尔马林固定之后, 组织标本包埋在石蜡中, 此过程包含三个步骤: 第一步是脱水, 其中水被替换成醇类, 通常为乙醇。接着是透明, 其中醇类被替换成二甲苯或二甲苯替代物, 最后是浸蜡, 其中二甲苯被替换成石蜡。最后一步是包埋, 整个标本被石蜡包围。石蜡包埋是

天美仪器实验室设备(上海)有限公司

上海市松江新浜镇申港路201号16幢 (201612)

1 010-64060202

f 010-64060202

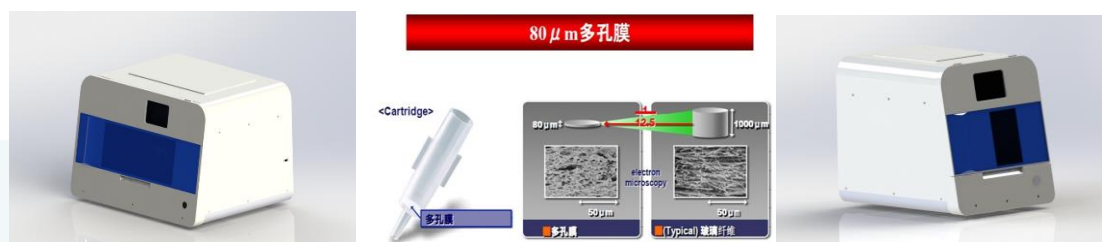
e TIL_LS@techcomp.cn

w www.techcomp.cn

维持蛋白完整性的关键一步，因为残留的水分可能导致蛋白水解。

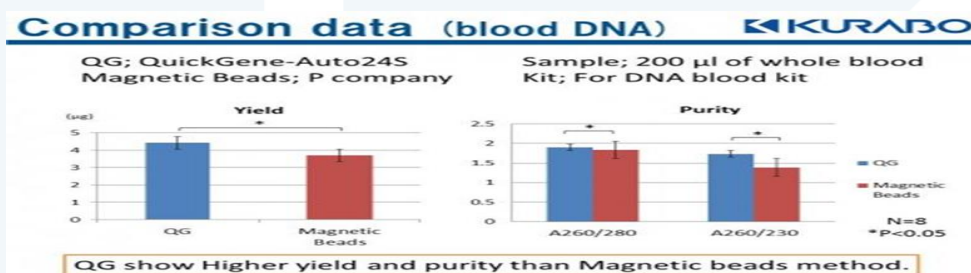
FFPE 样本日渐成为疾病分子层面研究的重要样本来源，由于 FFPE 样本保存过程中核酸已部分降解，同时 DNA 与组蛋白紧密交联，在常规的 FFPE 样本核酸提取过程中，可能会遇到诸多困难，比如：脱蜡的有机溶剂脱蜡效果不好；脱蜡试剂残留，干扰下游实验；样本珍贵，但抽提的核酸得率低，质量差；组织切片比较厚，难处理；提取步骤繁琐耗时等等。

天美生化代理的日本 KURABO 公司的核酸提取系统 QuickGene AUTO12S/24S 系列运用其专利的多孔膜技术可以实现 FFPE 样品的全自动化提取，避免人为的操作误差，减少繁琐的操作全程实现自动化高得率和高纯度的核酸提取。

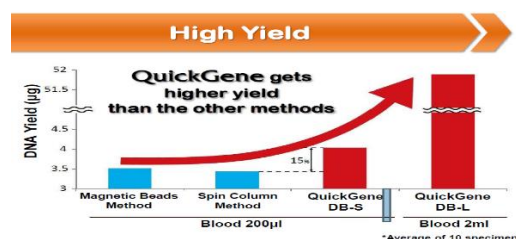


QuickGene 系列核酸吸附介质是应用先进聚合物膜生产技术研制专利性的多孔膜。它的厚度小于 100μm，比传统玻璃纤维薄得多。多孔膜具有优异的吸附和解吸性能，可在低压下快速可靠地进行核酸分离，而不会造成损伤，从而实现了高质量片段完整的核酸分离。

1. 相比于磁珠法能实现更好的 DNA 得率和纯度，满足测序以及 Qpcr 等样品质量要求高的下游检测的需求。



2. QuickGene-Auto12S 和 QuickGene-Auto24s 使用预先填充的试剂条,密封条件下提供所需的试剂，用于在一个试剂条中进行隔离，减少污染风险。当用户处理不同的样品和使用一天的耗材时，避免污染。QuickGene 试剂盒可用于人源、小鼠、植物、细胞等各种样品的 DNA / RNA 分离。



如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。