

## 两种 FFPE DNA RNA 共提试剂盒差别

	消化分选法	消化后分选法
柱法试剂盒(备案)	IVD5116(B版)	IVD5116(C版)
柱法试剂盒(未备案)	R5116	R5115
磁珠法(未备案)	D6327B, D6327D(含 DNase)	D6327, D6327C(含 DNase)
磁珠法(备案)	D6327-02B(IVD版)	D6323C
磁珠法(备案, 预分装)	IVD3025-TL-06(qiagen)	IVD3025-TL-06(Life)
样品前处理差别	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. FFPE 切片用脱蜡液处理去除石蜡。</li> <li>2. 加入 200ul FRL 和 20ul 蛋白酶 K, 55 度温育 15-20 分钟, 冰上放置沉淀 DNA, 13000rpm 离心 5 分钟分选 DNA 和 RNA, RNA 在上清液而 DNA 沉淀中, 并两者分选开来。</li> <li>3. 含 RNA 上清液, 80 度温育 15-30 分钟修复 RNA, 然后过柱或磁珠进行 RNA 纯化。</li> <li>4. 加入 200ul ATL 和 20ul 蛋白酶 K, 55 度温育 60 分钟消化 DNA, 90 度温育 1 小时修复 DNA, 然后过柱或磁珠纯化 DNA。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. FFPE 切片用脱蜡液处理去除石蜡。</li> <li>2. 加入 200ul ATL 和 20ul 蛋白酶 K, 55 度温育 60 分钟消化出 DNA 和 RNA, 90 度温育 1 小时修复 DNA 和 RNA。</li> <li>3. 加入高盐试剂, 用纯化柱或磁珠将 DNA 和 RNA 分开. 在高盐条件下, 纯化柱或磁珠只吸附 DNA, 不吸附 RNA。</li> <li>4. 得上清液加入乙醇, 过柱或磁珠吸附 RNA。</li> <li>5. 清洗除杂除盐, 最终得到 DNA 和 RNA。</li> </ol>
优点	RNA 完整好, 因 RNA 消化时间短, 修复时间短且修复温度更低 (80 度), 条件温和对 RNA 的完整性好, 适合对长片段 RNA 要求高的项目。	<ol style="list-style-type: none"> <li>1: DNA 和 RNA 得率都更高, 因为消化和修复更充分 [但 RNA 片段比较短。]</li> <li>2: 高盐介导吸附, DNA 纯度更高, 特别是高色素样品。</li> </ol>
注意事项	<ol style="list-style-type: none"> <li>1: 切片数量要严格控制, 3 片以内。原因: 因 RNA 消化时间短, 切片过多时存在消化不充分, 造成 RNA 下降扩增效率不充分。</li> <li>2: 切片固定时间不要过分, 过度交联或组织含粘多糖时交联物过多, RNA 因消化时间不充分, 也会造成的扩增不充分。</li> <li>3: 切片过多时, 因消化不充分 DNA 组分中含有较多的 RNA 污染。</li> <li>4: RNA 消化时, 55 度温育时间控制在 15-20 分钟, 过度消化时, DNA 也会被消化出来</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1: 切片不要超过 6 片, 过多样品也会造成消化不充分, 会因磁珠或柱子超载, 造成分选不充分。</li> <li>2: 高盐介导, 磁珠或纯化柱有最高载量限制。纯化柱最高产量不超过 15ug DNA, 磁珠不要超过 8ug DNA。过多的 DNA 因无法结合, 会残留在 RNA 组份中。</li> </ol>