

Isolation von: **Genomische DNA**

zum Nachweis von: **Humane Zielgene**

Ausgangsmaterial: Formalin-fixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe

Kit: RSC DNA FFPE Plus Kit **AS1720**

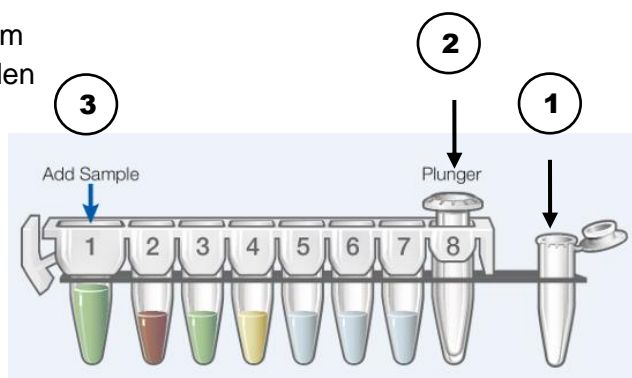
Probenvorbereitung

- 1.) Die im Kit enthaltene lyophilisierte Proteinase K jeweils in **500 µl** nukleasefreiem Wasser auflösen (Endkonzentration 20 mg/ml). Die so erhaltene Stammlösung anschließend aliquotieren und für den späteren Gebrauch einfrieren (-20°C, Haltbarkeit bis zu zwei Jahren).
- 2.) Probenmaterial (5 – 10 µm dicke FFPE-Schnitte, max. 2,0 mm³) in ein geeignetes Probengefäß überführen und mit **180 µl** des mitgelieferten Inkubationspuffers und **20 µl** der unter 1.) hergestellten Proteinase K-Lösung überschichten. Die Schnitte sollten komplett mit der Flüssigkeit bedeckt sein!
- 3.) Den Ansatz für wenigstens 1 h bei 70°C inkubieren (bessere Ausbeuten erhalten Sie bei längerer Inkubation von 8 h oder über Nacht).
- 4.) **400 µl** des mitgelieferten Lyse-Puffers hinzufügen und anschließend den Ansatz kurz vortexen.

Hinweis: Falls das Paraffin in Flöckchen ausfällt, erneut 2 min bei 70°C inkubieren und abkühlen lassen, ohne die Phasen zu verwirbeln.

Extraktion:

- 1.) Eine Kartusche in das Probenrack setzen und die Schutzfolie entfernen.
- 2.) Eines der im Kit enthaltenen Elutions-Gefäße in das Probenrack stellen und dieses mit **50 µl** nukleasefreiem Wasser befüllen (s. **1**).
- 3.) Einen Stößel an der angegebenen Position in der Kartusche (s. **2**) platzieren.
- 4.) Anschließend die gesamte Probe in die erste Kammer der Kartusche überführen (s. **3**). Eventuell im Probengefäß vorhandene Paraffin-Reste sollten nicht in die Maxwell-Kartusche transferiert werden!
- 5.) Im Gerätemenü das Programm zum **DNA FFPE Plus Kit** wählen und den Lauf starten.
- 6.) Nach der Extraktion das Eluat gemäß den Anforderungen des nachfolgenden Testsystems einsetzen.



Bitte beachten: Dieses Protokoll ist eine Anleitungs-Empfehlung und ersetzt keine laborinterne Evaluierung. Weitere Informationen erhalten Sie im Technical Manual unter www.promega.com/resources/protocols