

**FastPure® FFPE
DNA Isolation Kit**

DC105



使用说明书

Version 22.1

目录 Contents

01/产品概述	02
02/产品组分	02
03/保存条件	02
04/适用范围	02
05/自备材料	02
06/注意事项	03
07/实验原理与流程概要	03
08/实验流程	04
09/常见问题与解决方案	05

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品概述

本产品适用于从福尔马林固定、石蜡包埋组织中分离纯化基因组DNA，克服了福尔马林交联造成的抑制效应。该试剂盒使用的脱蜡液，较之二甲苯更安全；并通过特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，可得到高品质的DNA。整个提取过程只需20 min(除消化时间)，提取的基因组完整性好，纯度高，质量稳定可靠，可用于多种下游应用，如PCR、qPCR、文库构建等实验。

02/产品组分

组分	DC105-01 (50 rxns)
Deparaffinization Solution	40 ml
Buffer FTL	15 ml
Buffer FL	15 ml
Buffer FW1	13 ml
Buffer FW2	20 ml
Proteinase K	22 mg
Proteinase K Dissolve Solution	2 ml
Elution Buffer	10 ml
FFPE DNA Mini Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个

Deparaffinization Solution: 去除样本中石蜡;

Buffer FTL: 悬浮样本并裂解组织细胞;

Buffer FL: 提供DNA上柱缓冲环境;

Buffer FW1: 去除DNA中的蛋白;

Buffer FW2: 去除DNA中的盐离子;

Proteinase K: 酶解组织样本;

Proteinase K Dissolve Solution: 溶解Proteinase K干粉;

Elution Buffer: 洗脱结合柱上的DNA;

FFPE DNA Mini Columns: 特异性吸附样本中基因组DNA;

2 ml Collection Tubes: 滤液收集管。

03/保存条件

Proteinase K干粉: 2 ~ 8℃保存, 根据不同目的地调整运输方式;

溶解后的Proteinase K干粉于-30 ~ -15℃条件下保存;

其他组分: 15 ~ 25℃保存, 室温运输。

04/适用范围

石蜡组织切片: 5 - 8张(5 - 10 μm厚, 1 × 1 cm²大小, < 20 mg)。

05/自备材料

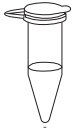
1. 56℃和90℃水浴锅。

2. 无水乙醇。
3. 配制Proteinase K工作液：加入1.1 ml的Proteinase K Dissolve Solution于22 mg Proteinase K至终浓度为20 mg/ml，轻轻颠倒让Proteinase K充分溶解。Proteinase K干粉可在2 ~ 8℃保存一年，但溶解的Proteinase K工作液须分装保存于-30 ~ -15℃，反复冻融会影响其活性。
4. Buffer FW1使用前须按瓶身标签所示，加入17 ml无水乙醇进行稀释。
5. Buffer FW2使用前须按瓶身标签所示，加入80 ml无水乙醇进行稀释。

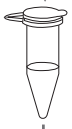
06/注意事项

- ◇ 新鲜的切片组织样本要尽快于4% - 10%的福尔马林中固定，固定时间以8 - 24 h内为宜，时间过长导致基因组断裂，影响下游提取实验。
- ◇ 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制后期PCR的检测效果。
- ◇ 本产品所提DNA的完整性依赖于样本类型、储存时间以及固定条件。如果福尔马林固定时间过长或样本存放时间过久(>1年)则易导致DNA完整性受损，无法扩出长片段。
- ◇ 若Buffer FTL、FL中出现沉淀，可在室温放置一段时间，必要时可在37℃水浴10 min，以溶解沉淀。
- ◇ 试剂盒中各试剂在使用前应按照说明书要求操作。

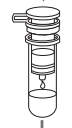
07/实验原理与流程概要



- ★ 取石蜡切片(5 - 10 μm厚，1 × 1 cm²大小)5 - 8张(<20 mg)；
加入0.6 ml Deparaffinization Solution；
56℃水浴6 min；
10,200 rpm(10,000 × g)离心2 min，弃上清。



- ★ 加入200 μl Buffer FTL和20 μl Proteinase K工作液；
56℃水浴1 h(至样品消化完全)；
90℃水浴1 h(去除DNA与蛋白质交联)；
加入200 μl Buffer FL和200 μl无水乙醇。



- ★ 转移混合液至吸附柱，10,200 rpm(10,000 × g)离心1 min，弃滤液；
加入500 μl Buffer FW1(已加乙醇)至吸附柱，10,200 rpm(10,000 × g)离心1 min，弃滤液；
加入650 μl Buffer FW2(已加乙醇)至吸附柱，10,200 rpm(10,000 × g)离心1 min，弃滤液；
空离吸附柱，10,200 rpm(10,000 × g)离心3 min。



- ★ 加入15 - 50 μl Elution Buffer。室温放置1 min，10,200 rpm(10,000 × g)离心1 min，收集滤液。

08/实验流程

1. Buffer FW1和Buffer FW2使用前请按照瓶身标签所示加入相应体积的无水乙醇。
2. 用Proteinase K Dissolve Solution将Proteinase K配制成分浓度为20 mg/ml的PK工作液。

提取步骤

1. 取石蜡切片(5 - 10 μm 厚, $1 \times 1 \text{ cm}^2$ 大小)5 - 8张, 用干净刀片去除多余石蜡, 把样品(<20 mg) 剪切成尽量小的碎片, 并转移至1.5 ml离心管中。
▲去除多余石蜡或用剪刀、刀片把样品剪切成尽量小的碎片有利于后续脱蜡。
2. 加入0.6 ml Deparaffinization Solution至样品中, 剧烈涡旋5 sec, 短暂离心让样品浸泡到脱蜡液中, 56°C水浴6 min, 剧烈涡旋20 sec。
3. 10,200 rpm(10,000 \times g)离心2 min, 弃上清。注意: 不要吸到沉淀。
4. 加入200 μl Buffer FTL和20 μl Proteinase K工作液至样品中, 涡旋混匀。56°C水浴1 h至样品完全消化, 期间需颠倒混匀数次。
5. 90°C水浴1 h。注意: 90°C处理可以去除DNA与蛋白质的交联, 明显提高DNA的产量。
▲(可选)若消化液中仍存在未消化的杂质, 10,200 rpm(10,000 \times g)离心3 min去除杂质。转移上清液至新的离心管。
6. 加入200 μl Buffer FL和200 μl 无水乙醇至上述处理液中, 涡旋混匀15 sec。
7. 将FFPE DNA吸附柱置于收集管中, 转移混合液至吸附柱中。10,200 rpm(10,000 \times g)离心1 min。
8. 弃滤液, 将吸附柱置于收集管中, 加入500 μl Buffer FW1(已加入乙醇)至吸附柱, 10,200 rpm(10,000 \times g)离心1 min。
9. 弃滤液, 将吸附柱置于收集管中, 加入650 μl Buffer FW2(已加入乙醇)至吸附柱, 10,200 rpm(10,000 \times g)离心1 min。
10. 弃滤液, 将吸附柱置于收集管中, 10,200 rpm(10,000 \times g)离心空柱3 min。
11. 将吸附柱转移至新的1.5 ml离心管中, 开盖3 min(挥发乙醇), 加入15 - 50 μl Elution Buffer至吸附柱膜中央。室温静置1 min, 10,200 rpm(10,000 \times g)离心1 min。
12. 丢弃吸附柱, 将DNA保存于-20°C, 长期保存需放置于-70°C。

09/常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
吸附柱堵塞	1. 样品量多	减少样品用量，石蜡切片不要超过8 - 10张。
	2. 脱蜡不充分	在处理样本时，刮去多余的石蜡。增加脱蜡液用量或者进行二次脱蜡，以彻底去除石蜡。
	3. 样品消化不充分	增加Proteinase K工作液用量或者延长Proteinase K工作液消化时间。
	4. 消化液中存在不溶解的物质	10,200 rpm(10,000 × g)离心3 min去除未消化的物质。
DNA产量低	1. 样品DNA含量低	使用保存时间短的样品或者新鲜样品进行提取；适当增加组织样品的用量。
	2. 样品消化不充分	增加Proteinase K工作液用量或者延长消化时间让样品充分消化。
	3. Buffer FW1/FW2未添加无水乙醇	请参考试剂瓶标签说明加入正确体积的无水乙醇。
	4. 添加洗脱液前过度干燥吸附柱	吸附柱开盖时间不宜超过5 min，否则容易造成DNA洗脱困难。
	5. 洗脱不充分	洗脱液需加至吸附柱膜中央，增加洗脱体积或次数。
DNA纯度低	1. 杂蛋白残留	在加入Buffer FL和无水乙醇至样品中时要保证样品液中无沉淀；用Buffer FW1洗涤纯化吸附柱时务必使用正确的离心转速。
	2. 盐离子残留	使用Buffer FW2洗涤时可洗涤纯化吸附柱2次。
	3. 乙醇残留	确认空管离心后室温开盖使乙醇挥发完全。
RNA污染	1. 样品提取过程中提取到RNA	在90℃去交联后，待样品恢复至室温时，加入2 μl RNase A(100 mg/ml)至样品中，室温孵育2 min。



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

