

伯优®FFPE样本RNA提取试剂盒(磁珠法)使用说明书

产品货号:72302-50

Ver 25.03

【产品介绍】

本产品适用于从福尔马林固定、石蜡包埋组织中分离纯化Total RNA,可有效逆转福尔马林对RNA的修饰,具有简单快捷、核酸纯度高等优点。得到的RNA可直接用于定量PCR及二代测序等常规实验。

【产品组分】

72302-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
Box1 (72302-50-01)	蛋白酶K	NC-22-001	1 mL	1
	磁珠H2	NR-23-001	0.5 mL	1
Box2 (72302-50-02)	FFPE RNA裂解液B	NR-23-002	15 mL	1
	FFPE RNA结合液B	NR-23-003	30 mL	1
	洗液H	NR-23-004	10 mL	2
	无酶水	NR-23-005	10 mL	1

【储存条件】

Box 1:2 ~ 8°C保存

Box 2:室温保存

【有效期】

12个月

【注意事项】

- 1.磁珠H2:不可冷冻,不可离心,在使用前需涡旋振荡30秒以上使磁珠重悬混匀。
- 2.洗液H:第一次使用前请按照试剂瓶标签的说明在洗液中加入无水乙醇并做好标记。
- 3.建议将石蜡样本切成5 ~ 10 μ M薄片,有利于脱蜡和组织消化。若条件受限,应尽量将样本切碎。

【实验所需材料(未包含)】

试剂:无水乙醇、二甲苯(或等效替代品)

仪器:水浴锅/金属浴、离心机、磁力架(1.5或2 mL)

耗材:1.5 mL离心管

【实验前准备】

- 1.确认洗液H中已加入40 mL无水乙醇。
- 2.56°C金属浴/水浴锅。
- 3.90°C金属浴/水浴锅。



【实验流程】

- ① 用干净刀片小心去除多余石蜡,把石蜡样品切成 5 ~ 10 μ m 薄片,有利于消化。
- ② 取1 ~ 10片石蜡样本置于1.5 mL离心管中,加入1 mL二甲苯(或等效替代品),振荡混匀。放入56°C金属浴/水浴锅孵育3分钟。最高速离心1分钟,小心弃上清,注意尽量不要吸到组织。
**离心后若二甲苯(或等效替代品)凝结,可将离心管放置于56°C孵育,融化后弃上清,并再次重复此脱蜡步骤1 ~ 2次以保证脱蜡完全。*
- ③ 加入1 mL无水乙醇,振荡混匀,室温静置2分钟,最高速离心2分钟,小心弃上清,注意尽量不要吸到组织。
- ④ 加入240 μ L FFPE RNA裂解液B和20 μ L蛋白酶K,振荡混匀。将离心管放入56°C 金属浴/水浴锅孵育15~20分钟,期间需混匀数次。
- ⑤ 尽快将离心管放入90°C 金属浴/水浴锅孵育30分钟,期间需混匀数次。
- ⑥ 将离心管取出,冰浴3分钟。最高速离心5分钟,小心吸取上清至新的1.5 mL离心管中,注意不要吸到沉淀。
- ⑦ 加入500 μ L FFPE RNA结合液B和10 μ L磁珠H2。振荡混匀,室温孵育10分钟。
- ⑧ 将离心管置于磁力架上,静置5分钟,待溶液澄清后,小心移除上清。
- ⑨ 加入500 μ L洗液H,振荡混匀。将离心管置于磁力架上,静置1分钟,待溶液澄清后,小心移除上清。
- ⑩ 重复步骤9一次。
- ⑪ 瞬时离心磁珠,将离心管置于磁力架上,小心吸尽上清。
- ⑫ 离心管开盖10分钟,空气干燥磁珠。
**可将离心管开盖放置于通风橱中,有利于磁珠干燥。*
- ⑬ 加入25 ~ 100 μ L无酶水,振荡混匀。室温静置5分钟。
- ⑭ 将离心管置于磁力架上,静置3分钟,待溶液澄清后,吸取上清液至新的1.5 mL离心管中。
- ⑮ 提取的FFPE RNA可直接用于下游实验,或于-20°C保存一周。如需长期保存,需存放于-80°C冰箱。

