

伯优®FFPE样本RNA提取试剂盒(离心柱法)使用说明书

产品货号:72304-50

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】

72304-50 (50 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
Box1 (72304-50-01)	蛋白酶K	NC-22-001	1 mL	1
	FFPE RNA裂解液C	NR-23-006	15 mL	1
	FFPE RNA结合液C	NR-23-007	30 mL	1
	洗液H	NR-23-004	10 mL	1
	无酶水	NR-23-005	10 mL	2
Box2 (72304-50-02)	离心柱	NR-23-008	50 个	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.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。
- 2.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

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 μM 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 μL FFPE RNA裂解液C和20 μL 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250 μL FFPE RNA结合液C和800 μL 无水乙醇,振荡混匀。
- ⑧ 取700 μL 混合液加入离心柱中,10,000 $\times$ g离心1分钟,弃滤液。
- ⑨ 将剩余混合液加入离心柱中,10,000 $\times$ g离心1分钟,弃滤液。
- ⑩ 离心柱中加入500 μL 洗液H,10,000 $\times$ g离心1分钟,弃滤液。
- ⑪ 重复步骤10。
- ⑫ 最高速离心空柱3分钟。
- ⑬ 将吸附柱转移至新的1.5 mL离心管中,加入25~100 μL 无酶水,室温静置2分钟。
- ⑭ 最高速离心1分钟,弃离心柱。
- 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。

