

操作手册

FFPE 样品 RNA 提取试剂盒

Catalog No. TR108-50 (50 次反应)

Highlights

- 可从 FFPE 组织样品或者切片中提取到高质量的总 RNA (含 microRNA)。
- 提取到的 RNA 可应用于 PCR、测序等下游实验。
- 产品包含 DNase I。

Ver.1.1.5

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
蛋白酶 K 及保存液	-20°C	2x5 mg
DNase I	-20°C	1 管
脱蜡液	室温	20 ml
2X 消化液	室温	5 ml
DNA 消化液	室温	4 ml
RNA 裂解液	室温	50 ml
RNA 预洗液	室温	25 ml
RNA 洗涤液	室温	24 ml
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
2 号柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

环境温度低时裂解液可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

特性:

- **样品大小:** 封闭在石蜡中的最多 25mg 组织或者表面积~20mm² 最多 4 张组织切片(厚度≤20 μm)，首次使用推荐使用 1-2 张切片。兼容新鲜或者冷冻的组织。
- **RNA 大小:** 可回收到≥17 核苷酸的 RNA。
- **RNA 回收率:** 每个离心柱最大的结合能力是 50μg。
- **RNA 纯度:** 获得的基因组 RNA 产量高、纯度好，一般情况 $Abs_{260/280} > 1.8$ $Abs_{260/230} > 1.8$
- **需要的仪器设备/试剂:** 水浴锅或者金属浴，微型离心机。

试剂制备:

在操作之前，需添加260μl蛋白酶K保存液到每管蛋白酶K（5mg）中。蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20℃长期保存。

添加96ml 100%乙醇（或104ml 95%乙醇）到24ml的RNA洗涤液中。

添加275μl的RNase-free H₂O到每管的DNase I中,混匀后DNase I的浓度为1U/μl。

提取步骤:

脱蜡

1. 尽可能多的从组织上去除石蜡，然后将样品放置到离心管内。

最多处理 25mg 石蜡块中的组织或者最多 4 个组织切片（总表面积 20mm²）建议处理 1-2 个切片

2. 添加 400μl 的脱蜡液到样品中。在 55℃下孵育 1 分钟，短暂涡旋。

3. 去除脱蜡液然后处理下一个切片

组织消化

1. 针对离心管中去除了脱蜡液的组织样品（≤25mg），添加以下混合物：

H ₂ O	95μl
2X 消化液	95μl
蛋白酶K	10μl

2.

快速消化流程	标准消化流程
在 55℃下孵育 1 小时（显微切割）	在 55℃下孵育 4 小时（组织块）

针对较大的组织推荐使用标准消化流程

3. 消化之后，转移管子将温度调到 65℃并且孵育 15 分钟防止交联样品。

RNA提取步骤

所有步骤的离心力均在10,000-16,000xg下离心30秒除非特殊说明

所有步骤均在室温下（20-30℃）下操作除非特殊说明

1. 添加 600μl 的 RNA 裂解液到脱蜡和消化后的组织中，混匀。最大速离心 1 分钟去除不溶物。
2. 将上清转移至 1 个离心管内。添加 1 倍体积的乙醇（95-100%），混匀。
3. 将混合物移至一个新的 2 号柱中，2 号柱套在一个新的收集管中，离心，去除滤出液。

柱上DNase I 消化处理（推荐）

此步骤主要是为了去除痕量的DNA. a) 添加400μl的RNA洗涤液到柱子上，离心。去除滤出液。

b)对于每一次的样品处理需要制备80μl的DNase I反应液。配比为 DNase I 5μl DNA消化液 75μl

c)直接添加80μl的DNase I反应液到柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。然后进行第4步继续处理后面的步骤。

4. 添加 400μl 的 RNA 预洗液到 2 号柱中，离心，去除滤出液。
5. 添加 700μl 的 RNA 洗涤液到 2 号柱中，离心，去除滤出液。
6. 添加 400μl 的 RNA 洗涤液到 2 号柱中，离心 2 分钟去除洗涤液残留。
7. 将 2 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加≥ 50μl 的 RNase-free H₂O 到柱基质上，室温下放置 1-2 分钟。离心，洗脱 RNA。