

FFPE样品RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.6)

产品说明

- ◇ 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。

产品货号：

TR108- 50（50次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
溶液制备	2
操作步骤	2
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	50次	保存
蛋白酶K	2x5 mg	-20°C
蛋白酶K保存液	2x500µl	-20°C
DNase I	250U	-20°C
脱蜡液	20 ml	室温
2X消化液	5 ml	室温
DNA消化液	4 ml	室温
RNA裂解液	50 ml	室温
RNA预洗液	25 ml	室温
RNA 洗涤液 (未添加乙醇)	24 ml	室温
无DNase/RNase水	10 ml	室温
2号CR纯化柱	50个	室温
2ml收集管	50个	室温

注意事项

- ◇ 简生物产品仅供研究使用，应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。售出后一年内产品可质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ◇ 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。

产品特性

- ◇ 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、纯度高，一般情况 Abs260/280 > 1.8 Abs260/230 > 1.8。
- ◇ 需要的仪器设备/试剂: 水浴锅或者金属浴，微型离心机。

溶液制备:

在操作之前, 需添加260 μ l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 $^{\circ}$ C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275 μ l的无DNase/RNase水到每管的DNase I中,混匀后DNase I的浓度为1U/ μ l。

操作步骤:

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 400 μ l 的脱蜡液到样品中。在 55 $^{\circ}$ C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 (\leq 25mg), 添加以下混合物:

无DNase/RNase水	95 μ l
2X消化液	95 μ l
蛋白酶K	10 μ l

2. 针对较大的组织推荐使用标准消化流程

快速消化流程	标准消化流程
在55 $^{\circ}$ C下孵育1小时 (显微切割)	在55 $^{\circ}$ C下孵育4小时 (组织块)

3. 消化之后, 转移管子将温度调到65 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C) 下操作除非特殊说明

1. 添加 600 μ l 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. 将混合物移到一个新的 2 号 CR 纯化柱中, 2 号 CR 纯化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洗涤液到纯化柱上，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反应液到纯化柱上，在室温下（20-30°C）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 CR 纯化柱中，离心，去除滤出液。
 5. 添加 700μl 的 RNA 洗涤液到 2 号 CR 纯化柱中，离心，去除滤出液。
 6. 添加 400μl 的 RNA 洗涤液到 2 号 CR 纯化柱中，离心 2 分钟去除洗涤液残留。
 7. 将 2 号 CR 纯化柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加≥ 50μl 的无 DNase/RNase 水到纯化柱基质上，室温下放置 1-2 分钟。离心，洗脱 RNA。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶K	TD3001-2-A	2*5mg	-20°C
蛋白酶 K 保存液	TD3001-2-C	2*500μl	-20°C
DNase I	TE1009-A	250U*1	-20°C
脱蜡液	TD3067-1-20	20 ml	室温
2X消化液	TD3050-1-5	5 ml	室温
DNA消化液	TE1010-1-4	4 ml	室温
RNA裂解液	TR1060-1-50	50 ml	室温
RNA预洗液	TR1060-2-25	25 ml	室温
RNA 洗涤液（未添加乙醇）	TR1003-3-24	24 ml	室温
无 DNase/RNase 水	TW1001-10	10 ml	室温
2 号 CR 纯化柱	TC1078-50	50个	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温