

---

## 产品简介

本试剂盒可从福尔马林固定石蜡包埋组织切片(以下简称FFPE)中提取总RNA。由于固定和包埋的条件限制，FFPE样本核酸通常发生片段化并且会被甲醛化学修饰，因此较难提取，本试剂盒提取的RNA可应用于RT-PCR等下游试验。

## 使用前注意事项:

1. 第一次使用前应在漂洗液RW中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。
2. **DNase I储存液的配制**

将DNase I干粉（1500 U）溶解在550  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O中，轻柔混匀，分装后-20 $^{\circ}$ C贮存（可保存9个月）。

**注意：从-20 $^{\circ}$ C融化后的DNase I储存液保存于4 $^{\circ}$ C（可保存6周），不要再次冻存。**

## 起始材料

1. 标准的福尔马林固定石蜡包埋程序也常常会造成核酸的片段化。为了尽量降低RNA片段化的可能性,应该按照以下操作步骤进行样本处理:
  - 组织切除后应尽快浸入4%-10%的福尔马林溶液中;
  - 固定时间最好为14-24 h(固定时间过长会导致RNA片段化更严重,不利于下游的试验);
  - 样本包被之前必须彻底脱水。
2. 应采用新鲜的FFPE组织切片,切片厚度不超过10  $\mu$ m, 切片过厚可能会造成RNA得率低, 每次制备采用的切片数应不超过8片, 表面积应不超过250 mm<sup>2</sup>。
3. 如果没有起始样本的信息, 建议初次制备采用的切片数应不超过2片, 然后根据RNA的得率和纯度, 下次制备采用的切片数可以进行调整, 但应不超过8片。

---

## 操作步骤

1. 将石蜡样品切成5-10  $\mu$ m厚的片状。

**注意: 如果样品表面暴露于空气中, 最初的2~3片弃掉不用。**
  2. 迅速将2-8张切片置于1.5 ml RNase-Free的离心管中, 加入1 ml二甲苯, 剧烈涡旋10 sec。
  3. 室温(15-25 $^{\circ}$ C), 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心2 min。
  4. 用枪头吸除上清, 小心不要吸到沉淀。
  5. 加入1 ml 无水乙醇于沉淀中, 涡旋混匀。
  6. 室温(15-25 $^{\circ}$ C), 12000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心2 min。
  7. 用枪头吸除上清, 小心不要吸到沉淀(用一个新的枪头小心吸出残余的乙醇)。
  8. 打开管盖, 室温(15-25 $^{\circ}$ C)或37 $^{\circ}$ C放置10 min直至残余的乙醇挥发完全。

**注意:完全去除残余的乙醇很重要, 残余的乙醇会对RNA产生影响。**
  9. 加入200  $\mu$ l 裂解液RFI以及10  $\mu$ l Proteinase K于沉淀中, 彻底涡旋混匀。
  10. 55 $^{\circ}$ C孵育15 min之后80 $^{\circ}$ C孵育15 min。
  11. 室温(15-25 $^{\circ}$ C), 12,000 rpm(~13,400 $\times$ g)离心5 min, 转移上清入新的RNase-Free离心管中。
  12. 加入220  $\mu$ l 的缓冲液RB, 涡旋混匀。
  13. 加入660  $\mu$ l的无水乙醇, 涡旋混匀(可能会出现沉淀)。
  14. 转移700  $\mu$ l溶液和沉淀入吸附柱CR3中(吸附柱放在收集管中), 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心1 min, 弃掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
  15. 重复步骤14, 直到所有的溶液和沉淀完全通过吸附柱CR3, 弃废液, 将吸附柱CR3放回收集管中。
  16. DNase I工作液的配制: 取10  $\mu$ l DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中, 加入70  $\mu$ l RDD溶液, 轻柔混匀。
  17. 向吸附柱CR3中央加入80  $\mu$ l的DNase I工作液, 室温放置15 min。
-



TIANGEN官方微信, 专业服务助力科研:

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动



Order: 010-59822688  
Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057  
TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

版本号: DP180427

- 向吸附柱CR3中加入500  $\mu$ l 去蛋白液RW1, 室温(15-25 $^{\circ}$ C), 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心30-60 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。
  - 向吸附柱CR3中加入500  $\mu$ l漂洗液RW (使用前请先检查是否已加入乙醇), 室温静置2 min, 12,000 rpm(~13,400 $\times$ g)离心30-60 sec, 弃废液, 将吸附柱CR3放回收集管中。
  - 重复步骤19。
  - 室温(15-25 $^{\circ}$ C), 12,000 rpm(~13,400 $\times$ g)离心2 min, 倒掉废液。将吸附柱CR3置于室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
- 注意:** 此步骤目的是将吸附柱CR3中残余的漂洗液去除, 漂洗液的残留, 可能会影响后续的RT等实验。
- 将吸附柱CR3转入一个新的RNase-Free离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100  $\mu$ l RNase-Free ddH<sub>2</sub>O, 室温放置2 min, 12,000 rpm(~13,400 $\times$ g)离心2 min, 得到RNA溶液。

**注意:** 洗脱缓冲液体积不应少于30  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70 $^{\circ}$ C保存。配置胶用RNA专用系统。

## RNAprep Pure FFPE Kit

### RNAprep Pure

## 石蜡包埋组织切片总RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP439

### 产品内容

产品组成	DP439 (50 preps)
裂解液RF (Buffer RF)	12 ml
缓冲液RB (Buffer RB)	12 ml
去蛋白液RW1 (Buffer RW1)	40 ml
漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
Proteinase K	500 $\mu$ l
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O (瓶装)	40 ml
RNase-Free 吸附柱CR3 (含2 ml 收集管) (RNase-Free Spin Columns CR3 set)	50 套
DNase I(1500 U)	1 支
缓冲液RDD (Buffer RDD)	4 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O (管装)	1 ml
RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5ml)	50 个

### 储存条件

DNase I, 缓冲液RDD和RNase-Free ddH<sub>2</sub>O(管装)置于2-8 $^{\circ}$ C保存; 其他试剂室温(15-25 $^{\circ}$ C)保存。