

# 伯优®FFPE样本RNA提取试剂盒(离心柱法)

产品货号:72304-50

Ver 26.05

## 【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
Box2 (72304-50-02)	FFPE RNA裂解液C	NR-23-006	15 mL	1
	FFPE RNA结合液C	NR-23-007	15 mL	1
	洗液H	NR-23-004	10 mL	2
	无酶水	NR-23-005	10 mL	1
	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 μM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。
3. 本品提取的RNA中含有少量DNA,若DNA残留对后续实验影响较大,建议增加DNA酶消化步骤。

## 【实验所需材料(未包含)】

试剂: 无水乙醇、二甲苯(或等效替代品)、DNase I(伯优72506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. 80°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，置于 1.5 mL 离心管中。
- ② 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。
- ③ 重复步骤 2 一次。
- ④ 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。
- ⑤ 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 ~ 30 分钟，期间需混匀数次。
- ⑥ 尽快将离心管放入 80°C 金属浴/水浴锅孵育 15 分钟，期间需混匀数次。
- ⑦ 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。
- ⑧ 加入 250 μL FFPE RNA 结合液 C 和 800 μL 无水乙醇，振荡混匀。
- ⑨ 取 700 μL 混合液加入离心柱中。10,000 × g 离心 1 分钟，弃滤液。
- ⑩ 将剩余混合液加入离心柱中。10,000 × g 离心 1 分钟，弃滤液。
- ⑪ (可选) 若 DNA 残留对后续实验影响较大，建议增加 DNase I 消化步骤：离心柱中加入 500 μL 洗液 H，10,000 × g 离心 1 分钟，弃滤液。配制 DNase I 消化液 (以伯优 72506 为例)，将 20 μL DNase I 消化液加在滤膜上，室温消化 15 分钟。

组分	体积 (μL)
10x Buffer	2
DNase I (3U/μL)	5
无酶水	13
Total	20

- ⑫ 离心柱中加入 500 μL 洗液 H，10,000 × g 离心 1 分钟，弃滤液。
- ⑬ 重复步骤 12。
- ⑭ 最高速离心空柱 3 分钟。
- ⑮ 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。
- ⑯ 最高速离心 1 分钟，弃离心柱。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。

