

ABC® 磁珠法石蜡包埋组织 RNA 提取试剂盒

目录号：ABC3632

产品信息

产品名称	产品编号	规格
磁珠法石蜡包埋组织 RNA 提取试剂盒	ABC3632-50T	50T

产品简介

本试剂盒适用于福尔马林固定、石蜡包埋组织（FFPE）的 RNA 提取，采用特殊的脱蜡试剂，不含二甲苯等有机溶剂，安全无毒，可有效地去除石蜡并释放出组织样本。本试剂盒利用特殊的裂解缓冲液能高效地裂解组织并利用超顺性磁珠特异结合 RNA，可快速、有效地提取出组织中 RNA，提取过程可在 1 h 内完成，RNA 产量大，纯度和完整程度高，适用于 RT-PCR 和 Real-Time PCR 等下游分子生物学实验。

储存与运输

DNase 和 Proteinase K 冰袋（wet ice）运输，-20℃保存；其它试剂室温运输，室温储存，有效期 12 个月。

组成

Component Number	Component	ABC3632-50T
ABC3632-1	Buffer DP	30 mL
ABC3632-2	Buffer FRL	10 mL
ABC3632-3	Proteinase K	1 mL
ABC3632-4	Buffer MRB	10 mL
ABC3632-5	SweMag Beads	1.5 mL
ABC3632-6	DNase	500 µL
ABC3632-7	10×DNase Reaction Buffer	1 mL
ABC3632-8	Buffer RW1	8.5 mL
ABC3632-9	Buffer RW2	16 mL
ABC3632-10	Nuclease-free Water	10 mL
说明书		1 份

使用前须知（请仔细阅读）

1. 提前准备好 80℃ 和 55℃ 的水浴或加热块。
2. 如果 Buffer FRL 和 Buffer MRB 出现沉淀，请于 65℃ 加热溶解，待恢复至室温后使用。
3. DNase 工作液现配现用。
4. 使用前请向 Buffer RW1 中加入 22 mL 的无水乙醇，向 Buffer RW2 中加入 64 mL 的无水乙醇，混合均匀后使用。
5. 自备磁力架。

操作步骤

1. 样本处理
 - I. 石蜡切片：取石蜡切片（5-10 µm 厚，1×1 cm² 大小）5-8 张，若样本暴露于空气中，则表面的 2-3 张丢弃不用。
 - II. 石蜡块：用灭菌手术刀刮取约 30 mg 的组织样本，尽量去除多余的石蜡并切碎样本。

- III. 福尔马林浸泡的样本组织：用滤纸吸干样本表面的液体，取约 30 mg 样本，切碎并置于 1.5 mL 离心管中，加入 500 μ L 1 \times PBS 缓冲液 (pH 7.4)，涡旋振荡 10 s 后 12,000 rpm 室温离心 1 min，弃上清，重复 3 次。
2. 将样本转移至 1.5 mL 离心管中，加入 500 μ L Buffer DP，80 $^{\circ}$ C 孵育 3 min，趁热涡旋振荡 10 s；
3. 向离心管中加入 200 μ L Buffer FRL，涡旋振荡混匀，12,000 rpm 室温离心 1 min，溶液形成上下两层（上层为油相，下层为水相）；
4. 于下层水相中加入 20 μ L Proteinase K，使用移液器轻轻吹打混匀（尽量不要破坏分层），55 $^{\circ}$ C 孵育 15 min；
5. 随后将离心管转移至 80 $^{\circ}$ C 孵育 15 min（若只有一个加热模块，此步请将含样本的离心管先置于室温，当加热模块温度达到 80 $^{\circ}$ C 后再将离心管放入加热模块中），上下颠倒混匀；
6. 12,000 rpm 室温离心 5 min，溶液形成上下两层（上层为油相，下层为水相）；
7. 取下层水相溶液至一新的 Nuclease-free 1.5 mL 离心管中（不要取到上层油相溶液和其他杂质），加入等水相体积的 Buffer MRB 和 3 倍水相体积的无水乙醇（可能会出现沉淀），使用移液器吹打混匀；
8. 向离心管中加入 30 μ L SweMag Beads（SweMag Beads 使用前需涡旋至分散均匀），使用移液器吹打至磁珠分散均匀；
9. 室温放置 5 min，期间使用移液器吹打混匀 2-3 次，使磁珠保持分散均匀的状态；
10. 将离心管移至磁力架上静置 30 s，使磁珠吸附至管壁，待上清清澈后，吸弃上清（为避免影响提取效率，勿将磁珠吸出），将离心管从磁力架上取下；
11. 配制 DNase 工作液：取 80 μ L Nuclease-free Water，10 μ L 10 \times DNase Reaction Buffer 和 10 μ L DNase 于一新的 Nuclease-free 离心管中，使用移液器轻轻吹打混匀；
12. 将 DNase 工作液加入到含磁珠的离心管中，使用移液器轻轻吹打混匀，室温放置 15 min，期间使用移液器吹打混匀 2-3 次；
13. 向离心管中加入 500 μ L Buffer RW1，使用移液器吹打至磁珠分散均匀，再将离心管移至磁力架上静置 30 s，使磁珠吸附到管壁，待上清清澈后，吸弃上清（为避免影响提取效率，勿将磁珠吸出）；
14. 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入 600 μ L Buffer RW2，用移液器吹打至磁珠分散均匀，再将离心管移至磁力架上静置 30 s，使磁珠吸附到管壁，待上清清澈后，吸弃上清（为避免影响提取效率，勿将磁珠吸出）；
15. 重复操作步骤 14；
16. 将离心管盖打开，室温放置 5-10 min，使乙醇完全挥发（请勿使磁珠过度干燥，以免影响核酸得率）；
17. 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入 50-100 μ L Nuclease-free Water，用移液器轻轻吹打至磁珠分散均匀，室温静置 3 min；
18. 将离心管置于磁力架上，直至磁珠完全吸附，吸取上清至一新的 Nuclease-free 离心管中，即得高纯度的 RNA。

注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品说明书。
2. 本试剂盒提取 RNA 的得率和完整性依赖于样本种类，固定时间、固定条件以及样本储存时间等。固定时间最好在 8-24 h 以内，如果样本固定时间超过 24 小时或者存放时间超过 1 年，则可能会导致 RNA 大量降解。
3. 样本包埋前需完全脱水，以防止残留的福尔马林对后续实验造成影响。
4. 包埋组织取样时应尽量去除多余的石蜡并切碎样本，且取样量不要超过 30 mg，否则易造成裂解不充分的情况，影响核酸得率。
5. 磁珠易沉淀，使用前应摇匀或涡旋混匀，磁珠悬液在保存过程中应避免冷冻。
6. 洗脱 RNA 前应使乙醇完全挥发，避免残留的乙醇影响下游实验，但请勿长时间干燥磁珠，以免影响 RNA 洗脱效率。

7. FFPE 样本中纯化的核酸不建议用于需要全长 RNA 的下游应用。
8. 实验时穿实验服，戴一次性手套，佩戴口罩，避免讲话，使用 Nuclease-free 的枪头和离心管以避免交叉污染。
9. 应使用 RNA 提取专用操作实验台与电泳设备。

产品仅供科研用途，不用于临床诊断！