



# FFPE RNA Kit

## 石蜡包埋组织 RNA 提取试剂盒

### 产品简介

FFPE RNA Kit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。试剂盒采用无毒型的脱蜡试剂代替经典的二甲苯脱蜡过程，并在脱蜡过程中无需去除液体，减少微量样品丢失的风险。本试剂盒提取的RNA可应用于RT-PCR等下游试验。

### 试剂盒组成

产品编号	R7101	R7105	R7106	R7107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer FL1	2ml	22ml	43ml	85ml
Buffer FL2	1.2ml	15ml	30ml	55ml
Buffer BL	1.2ml	15ml	30ml	55ml
Wash Buffer I	3ml	33ml	55ml	110ml
Wash Buffer II	2	13ml	26ml	26ml*2
Proteinase K	120µl	1.05ml	1.05ml*2	2.1ml*2
说明书	1	1	1	1

### 储存和稳定性

室温保存，12个月内有效。Buffer FL2与Buffer BL可能有沉淀产生，37°C水浴溶解后即可。Proteinase K常温运输，-20°C保存。

### 实验前准备

请仔细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

### 浓缩的Wash Buffer II需用无水乙醇按如下稀释：

R7101 加8 ml；R7105加入52 ml；R7106与R7107每瓶加入104 ml 无水乙醇

### 需自备器材

无水乙醇 1.5ml离心管 水浴 离心机

### 操作步骤

1. 将石蜡样品切成5-20 µm厚的片状。
2. 迅速将2-8张切片置于1.5 ml RNase-Free的离心管中，加入400µl Buffer FL1，剧烈涡旋10 sec。
3. 56°C 水浴 3 分钟。恢复至室温（20-25°C）。
4. 加入 200µl Buffer FL2 至样品中，涡旋混匀。
5. 11,000×g 离心 1 分钟。此时分成两层：上层含蜡层，下层水相层。
6. 加入 20µl Proteinase K 至下层的溶液中。用移液枪轻轻吸打几次混匀。
7. 56°C水浴 15 分钟，然后于 80°C水浴 15 分钟。  
注：80°C处理可以逆转被甲醛修饰的核酸。延长时间会引起的 RNA 的降解。如果只有一个水浴，务必等水浴温度升到80°C才将样品置于其中。
8. 转移下层的裂解液至 1.5ml 离心管中，冰上放置2min。室温(20-25°C)，12,000 rpm(~13,400×g)离心10 min，转移上清入新的RNase-Free离心管中。
- 9.加入200µl Buffer BL至样品中，涡旋20秒。
10. 加入660µl 的无水乙醇，涡旋混匀(可能会出现沉淀)。
11. 转移650µl 溶液和沉淀入吸附柱中(吸附柱放在收集管中)，12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
12. 重复步骤11，直到所有的溶液和沉淀完全通过吸附柱，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 13.可选步骤（DNA膜上消化）：5 µl DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中，加入35 µl Buffer RDD，轻柔混匀。向纯化柱加入40µl DNase工作液，室温放置15-20min。（DNase I与 Buffer RDD需要另外购买）。
14. 加入500µl Wash Buffer I至柱子中，10,000×g离心1min,倒弃流出液；
- 15.加入600µl Wash Buffer II至柱子中，10,000×g离心1min,倒弃流出液；  
注意：Wash Buffer II使用前须按要求用无水乙醇稀释。如果放入冰箱中，使用前须恢复到室温。
- 16.再加入600µl RNA Wash Buffer II至柱子中，10,000×g离心1min,弃去流出液；
17. 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中，最大转速 (>13.000×g) 离心空结合柱1min以干燥柱子的基质；这一步对下面的洗脱步骤至关重要。
18. 将GBC吸附柱转入一个新的离心管中，加15-30µl DEPC-Water，室温放置1 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心30秒。且RNA 应保存在-70°C，以防降解。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
纯化柱阻塞	样品太多，脱蜡不完全	切片不能厚度不能 20 μm，使用量不能超过 8 张。
低 RNA 量	柱子阻塞	见上述。
	样品不好	样品固定后超过 20 小时，或者是长时间保存的切片，都会导致 RNA 的量严重下降。
	样品太多	样品太多，裂解效果差。
RNA 降解	样品中 RNA 已经降解	石蜡包埋组织中的 RNA 在固定、包埋、保存的过程中都会发生降解。
	操作过程中，引入 RNase。	所用耗材等，务必是 RNase-free，操作过程中勤换手套。
下游应用差	盐分污染	确保 Wash Buffer II 按说明书加入无水乙醇
	乙醇污染	洗脱前，务必空柱离心 1min
	DNA 污染	减少样品量，进行 DNase 膜上消化

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

## 广州捷信斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB:www.gbcbio.cn