

# 石蜡包埋组织总 RNA 提取

## 微量说明书

组分 \ 货号	ZD-TG-48-50
微量离心柱	50 个/包×1
1.5ml 离心管	50 个/包×1
溶液 UL	30ml/瓶×1
溶液 RW2	6ml/瓶×1
溶液 TC	12ml/瓶×1
RNase-Free 水	6ml/瓶×1
Proteinase K	2mg/管×1
说明书	1 份

### ■ 产品介绍

样本无需二甲苯脱蜡，方便用户。在缓冲液体作用下，RNA 从样本中快速释放，吸附于高性能的固相基质。洗脱后即可获得高纯度 RNA。

### ■ 存储和稳定性

Proteinase K（固体）置于 2~8℃ 长期保存。其余组分室温避光保存。

保质期：12 个月。

### ■ 使用前准备

- 阅读说明书，熟悉操作步骤。

自备试剂耗材：无水乙醇、1.5ml 离心管。

处理福尔马林固定组织时需自备 PBS(10mM, pH7.4)。

盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的洗脱液。

- 每次使用前检查溶液 UL。低温时 UL 会析出沉淀，需在 50℃ 水浴中完全溶解沉淀，摇匀后使用。
  - 注意！溶液 TC 极易挥发，每次使用后应立即拧紧瓶盖，避免因液体减少影响使用。
  - 首次使用前，向溶液 RW2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。每管 Proteinase K 首次使用前用 275μl RNase-Free 水完全溶解。如酶溶解后未立即用完，应分别按每次用量分装成小份后 -20℃ 保存备用，避免反复冻融造成酶活力下降。
  - 离心均室温进行。
- ### ■ 注意事项
- 试剂如不慎溅到皮肤或粘膜时，立即用大量清水冲洗。
  - 离心柱、离心管为一次性产品。

## ■ 提取步骤

### 1. 样本处理

石蜡切片：取石蜡切片（5~10 $\mu$ m厚，1 $\times$ 1cm<sup>2</sup>大小）2~4 张于 1.5ml离心管中。至步骤“2”。

石蜡包埋组织块：取刀片刮取或切成薄片的组织样本 2~4 mg于 1.5ml离心管中，至步骤“2”。

福尔马林等固定液中样本：取样本 2~4 mg，切为数块，置于 1.5ml离心管中。向管中加入 500 $\mu$ l PBS (10mM, pH7.4)，涡旋混匀 15sec, 12000 $\times$ g 离心 1min，弃上液。用PBS缓冲液按上法重复清洗 3 次后，至步骤 2。

注：处理石蜡包埋组织块时应尽量剔除石蜡，石蜡不会影响消化但会增加消化体积。尽量不要使用蜡块表面长期暴露于空气中的组织。

2. 向样本中加入溶液 UL 300 $\mu$ l（样本应完全浸没于溶液 UL 中，必要时可短暂离心），80 $^{\circ}$ C 孵育 60 min（期间每 15min 混匀一次）。

3. 取出离心管并将其冷却至 56  $^{\circ}$ C 以下（室温放置 5min 即可），加入 5 $\mu$ l Proteinase K, 充分混匀。56 $^{\circ}$ C 温育至组织块完全消化（耗时约 15~60min，期间每 5~10min 混匀一次，用自动混摇仪消化效果更佳）。

4. 加入 150 $\mu$ l 溶液 TC, 涡旋混匀 15sec, 最高转速（12000 $\times$ g 以上）离心 5min。用移液器小心将上层清液移入新离心管中，移入过程中测算清液体积。加入清液 1.1 倍体积的无水乙醇，充分混匀。

注：取上层清液时注意不要吸入清液下的杂质，会影响后续试验。

5. 将混匀液全部移入套有收集管的微量离心柱中，8000 $\times$ g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。

注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。

6. 向离心柱中加入 200 $\mu$ l 溶液 RW2, 8000 $\times$ g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。

7. 重复步骤“6”一次。

8. 12000 $\times$ g 离心 2min。

9. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）中。向柱中央加入 RNase-Free 水 5~20 $\mu$ l，室温放置 2~3min，12000 $\times$ g 离心 1min。RNA 溶液即收集在 1.5ml 离心管中。

注意！核酸溶液用于后续分析前，12000 $\times$ g 离心 1min，小心吸取液体上清使用，不可振摇或吸打混匀液体，这会吸入底部沉淀的从柱子上掉落的颗粒，造成检验结果异常。

注：为提高得率，可向离心柱中央再加入 5~20 $\mu$ l RNase-Free 水，室温放置后离心收集 RNA 溶液，注意这会增大溶液体积并降低浓度。也可将离心收集的溶液重新加回原离心柱膜中央后室温放置 2min，12000 $\times$ g 离心 1min 收集液体，这可提升核酸浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133