

## **Biospin FFPE Tissue RNA Extraction Kit**

## **Biospin 石蜡包埋组织RNA提取试剂盒**

**TECHNICAL SUPPORT:**

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to  
0086-571-87774553

Email to [reagent@bioer.com.cn](mailto:reagent@bioer.com.cn).

**Website: [www.bioer.com.cn](http://www.bioer.com.cn)**

## 试剂盒组成

货号	BSC66S1	BSC66M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
Deparaffinization Solution	50ml	100ml
Lysis II Buffer	10ml	20ml
Binding Buffer	10ml	20ml
SW Buffer	26ml	52ml
Wash Buffer II	8ml (使用前加入 32 ml 乙醇)	16ml (使用前加入 64 ml 乙醇)
RElution Buffer	10ml	20ml
PK Solution	500 $\mu$ l (Stored at 2-8 $^{\circ}$ C)	1ml (Stored at 2-8 $^{\circ}$ C)
Spin Column	50	100
说明书	1 份	1 份
货号	BSA35S2B (保存于-20 $^{\circ}$ C)	BSA35M2B (保存于-20 $^{\circ}$ C)
DNase I Buffer	1.3 ml $\times$ 2	1.3 ml $\times$ 4
DNase I	100 $\mu$ l	200 $\mu$ l

## 储存与运输

- ◆ 试剂盒于室温保存，PK Solution 应保存于 2 $^{\circ}$ C-8 $^{\circ}$ C，DNase I 保存于-20 $^{\circ}$ C；有效期为 12 个月。
- ◆ 试剂盒可在常温下运输，除 PK Solution 和 DNase I 需要低温运输。

## 介绍

本试剂盒适用于从石蜡包埋组织或福尔马林固定组织中提取高质量的RNA, 采用安全无毒的脱蜡溶液，特殊的裂解液配方，快速释放样本中的RNA，通过高效的结合纯化系统，提取得到完整性好、高纯度的RNA。

经过裂解等特殊处理过程，去除交联与 RNA 上的抑制基团，提取的 RNA 可适用于 RT-PCR 和 Real-time RT-PCR 等下游应用。

## 需要的配套设备和材料

- \* 1.5ml 离心管
- \* 离心机（最大转速 $\geq 14,000g$ ）
- \* 恒温金属浴或恒温水浴
- \* 各种规格移液器吸头
- \* 含量 95%以上无水乙醇

## 重要提示

- 1) Wash Buffer II: 使用前请按标签提示加入含量 95%以上的无水乙醇。
- 2) Lysis II Buffer: 在室温较低时会有沉淀, 请于 50°C 左右加热至沉淀完全溶解。
- 3) PK Solution: 请置于 2°C~8°C 保存。
- 4) DNase I: 请置于 -20°C 保存, 短期使用可于 2°C~8°C 保存 1 周。
- 5) 在室温下进行所有离心操作。

## 操作步骤

### 1. 样本处理

- a) 石蜡切片: 取 10  $\mu m$  左右厚度、面积等同于大约 0.5cm $\times$ 0.5cm 大小的石蜡切片 8 片以下, 加入到无菌的 1.5ml 离心管中。
  - b) 石蜡块: 用无菌的手术刀切去表面的与空气接触部分, 刮取样本组织 30mg 以下, 尽量避免石蜡部分, 加入到无菌的 1.5ml 离心管中。
  - c) 福尔马林浸泡的样本: 用无菌手术刀片切取样本组织至小片状 (有助于裂解消化), 加入无菌 1.5ml 离心管, 加入 1ml 10mM 的 pH7.0-7.4 PBS 溶液或生理盐水, 漩涡混匀, 离心机最高转速离心 1min, 吸弃液体部分, 再重复洗涤一次。直接开始操作第 5 步。
2. 在装有石蜡组织的 1.5ml 离心管中加入 1ml Deparaffinization Solution, 盖上管盖后漩涡混匀 10s, 然后放置于 56°C 的金属浴或者水浴 3min。
  3. 14,000g 离心 2min, 吸弃上清部分。
  4. 加入 1ml 无水乙醇, 盖上管盖后漩涡混匀 10s, 14,000g 离心 2min, 吸弃上清部分, 保持管盖开启在室温或 37°C 烘箱放置 10min 至乙醇完全挥发。
  5. 加入 200 $\mu l$  Lysis II Buffer、10 $\mu l$  PK Solution, 漩涡混匀, 56°C 金属浴或水浴加热 15min (期间轻轻混匀样本有助于加快裂解)。
  6. 12000rpm 离心 2min, 转移上清至新的离心管中, 80°C 温浴 15min。
  7. 取出加热的离心管, 室温静置 3-5min 恢复至室温, 加入 200 $\mu l$  Binding Buffer。
  8. 在上述管中加入 600 $\mu l$  无水乙醇, 漩涡混匀。

9. 吸取700 $\mu$ l混合液到吸附柱Spin column中，12000rpm离心1min，弃去接液管内液体。
10. 将剩余的混合液吸取到吸附柱Spin column中，12000rpm离心1min，弃去接液管。
11. 将预先混合好的48 $\mu$ l DNase I Buffer与 2 $\mu$ l Dnase I加入Spin column 柱中，室温静置15min。
12. 在吸附柱中加入 500 $\mu$ l SW Buffer，12000rpm 离心 1min，弃去接液管内液体。
13. 在吸附柱中加入500 $\mu$ l Wash Buffer II（确保已加入乙醇），12000rpm离心1min，弃去接液管内液体。
14. 在吸附柱中加入200 $\mu$ l Wash Buffer II（确保已加入乙醇），12000rpm离心2min，弃去接液管。
15. 将吸附柱转至一个新的1.5ml离心管中，向吸附柱膜的正中加入 30~100  $\mu$ l RElution Buffer，室温放置2分钟，12,000rpm离心2min，以洗脱RNA。收集得到的RNA如不立即使用请保存于-80 $^{\circ}$ C。

## 常见问题及对策

问1：提取得率低或者无RNA

答：Wash Buffer II中应按标识加入95%以上的无水乙醇。

收到试剂盒后应将PK Solution储存在2 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C。

问2：担心倾倒接液管液体会导致交叉污染

答：可以单独购买接液管，每次更换。

问3：提取的RNA中有基因组DNA残留。

答：收到试剂盒后应将 DNase I 储存在-20 $^{\circ}$ C，短期使用完可于2 $^{\circ}$ C—8 $^{\circ}$ C保存1周。

## 实验举例

使用Biospin 石蜡包埋组织RNA提取试剂盒和使用市售同类试剂比较。荧光定量PCR分析提取的产物

