

R6954 FFPE RNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释或配制以下溶液

➤ 使用【无水乙醇】对 RWB Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
R6954-00	8mL
R6954-01	48mL
R6954-02	48mL (每瓶)

提取步骤：（标准方案）

1. 用实验刀将样本上多余的石蜡切下，切下厚度为 5-10 μ m，如果样品表面暴露在空气中，应去除前面的 2-3 个切片；
2. 将切下的 3-8 片样本转移到 1.5 或 2mL 离心管中，加入 1mL 二甲苯，涡旋混匀 10s；
3. 室温下，10,000xg 离心 2min，吸除上清液，注意不要吸到沉淀；
4. 加入 1mL 无水乙醇，涡旋混匀，室温下，10,000xg 离心 2min，吸除上清液，注意不要吸到沉淀；
5. 打开盖子，在 37 $^{\circ}$ C 空气干燥 15min，直至乙醇完全挥发；
6. 加入 200 μ l Buffer FTL 和 20 μ l OB Protease，涡旋混匀；
7. 在 55 $^{\circ}$ C 孵育 15min，后在 80 $^{\circ}$ C 孵育 15min；
8. 10,000xg 离心 5min，将上清转移到新的离心管中；
9. 加入 220 μ l Buffer GTC，涡旋混匀；
10. 加入 660 μ l 无水乙醇，涡旋混匀；
11. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 套入到 2mL 收集管中，转移 700 μ l 步骤 10 中的混合液至柱子中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
12. 重复步骤 11，直至将步骤 10 中的混合液完全转移过柱；
13. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 套入到新的 2mL 收集管中，加入 500 μ l RWB Wash Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
 Note: RWB Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
14. 重复步骤 13，再加入 500 μ l RWB Wash Buffer 进行二次洗涤；
15. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 套回到 2mL 收集管中，最大速度(10,000xg) 空柱子离心 2min 干燥；
16. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 套入到新的 1.5mL 离心管，加入 15-50 μ l DEPC-Teated Water，室温静置 3min，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA。

快速方案：

1. 用实验刀将样本上多余的石蜡切下，切下厚度为 5-10um，如果样品表面暴露在空气中，应去除前面的 2-3 个切片；
2. 将切下的 3-8 片样本转移到 1.5 或 2mL 离心管中，加入 250µl Buffer FTL，涡旋混匀；
3. 在 80°C 孵育 15min，室温静置 1min；
4. 加入 20µl OB Protease，涡旋混匀；
5. 在 55°C 孵育 15-60min；
6. 室温下，10,000xg 离心 3min，石蜡将在裂解液的上层形成薄层；
7. 用 1mL 的移液枪头穿透石蜡层，吸取 200µl 裂解液转移到新的 1.5mL 离心管中。
8. 按照标准方案的 9-16 步进行。

真空抽滤方案：

在将裂解液加入到 HiBind[®] RNA MicroElute column 前，按照前面操作进行。

1. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 与真空抽滤装置相连，将裂解液转移到 HiBind[®] RNA MicroElute column 中；
2. 打开真空抽滤装置，直至混合液全部抽滤过柱，关闭真空抽滤装置；
3. 加入 650µl RWB Wash Buffer，打开真空抽滤装置，直至溶液全部抽滤过柱，关闭真空抽滤装置；
4. 加入 500µl RWB Wash Buffer，打开真空抽滤装置，直至溶液全部抽滤过柱，关闭真空抽滤装置；
5. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 从真空抽滤装置中取下，套入到 2mL 收集管中，离心 2min 干燥柱子；
6. 将 HiBind[®] RNA MicroElute column 套入到新的 1.5mL 离心管中，加入 15-50µl DEPC-Treated Water，静置 1-2min，离心 1min 洗脱 RNA。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准