

天
净
沙
系
列

CAT#:81102-30
低温运输, 4°C保存

TIANDZ

石蜡包埋组织 RNA_{OUT} PET RNA_{OUT}

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

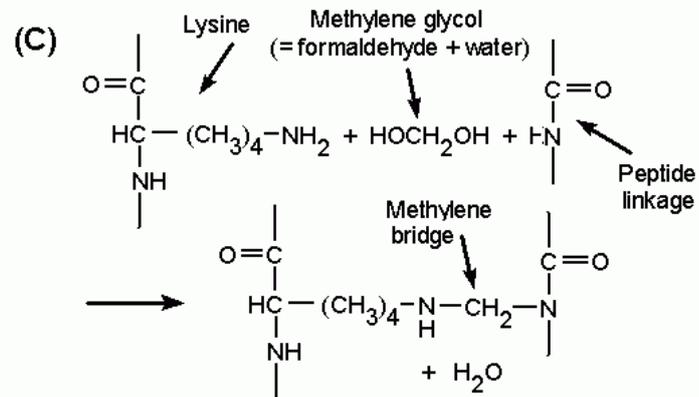
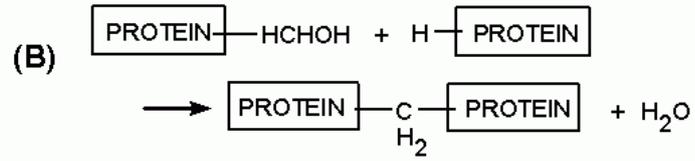
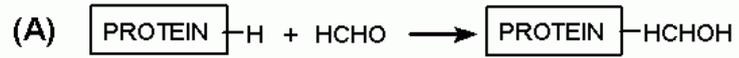
<p>产品及特点</p>	<p>石蜡包埋组织本是珍贵的分子生物学研究材料，但是由于它们的保存时间一般都比较长，很不容易从中提取到可以进行 PCR 的 RNA，存在的主要问题是 RNA 的降解和脱蜡过程中样品的丢失。本产品是专门用于从甲醛和非甲醛固定的石蜡包埋组织中快提 RNA（包括miRNA）的试剂，具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 一管式操作，避免了可能的交叉污染和样品 RNA 的丢失。 2. 含一步离心式脱蜡试剂，不需要使用有毒的二甲苯，健康环保。 3. 能有效去除基因组 DNA 的污染，得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR 反应。 4. 即开即用，客户自己不需要准备额外的试剂。 																											
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="614 645 1289 1171"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>30 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>溶液 A</td> <td>81102A</td> <td>30 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 B</td> <td>81102B</td> <td>3 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 C</td> <td>81102C</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 D</td> <td>81102D</td> <td>15 mL</td> </tr> <tr> <td>微量核酸沉淀剂 (CAT#:50903-30)</td> <td>50903</td> <td>30 mL</td> </tr> <tr> <td>RNase-free 水</td> <td>80403</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>81102sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	30 次包装	溶液 A	81102A	30 mL	溶液 B	81102B	3 mL	溶液 C	81102C	5 mL	溶液 D	81102D	15 mL	微量核酸沉淀剂 (CAT#:50903-30)	50903	30 mL	RNase-free 水	80403	10 mL	使用手册	81102sc	1 份
成份	编号	30 次包装																										
溶液 A	81102A	30 mL																										
溶液 B	81102B	3 mL																										
溶液 C	81102C	5 mL																										
溶液 D	81102D	15 mL																										
微量核酸沉淀剂 (CAT#:50903-30)	50903	30 mL																										
RNase-free 水	80403	10 mL																										
使用手册	81102sc	1 份																										
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，4℃保存（溶液 C 需要-20℃放置），有效期一年。</p>																											
<p>自备试剂</p>	<p>氯仿、75%乙醇。</p>																											
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 将 5 片厚度为 6-8 um 的石蜡包埋组织切片转移到 1.5 mL 塑料离心管(最好使用螺旋盖离心管)中并加入 1 mL 溶液 A,在振荡器上以最大速度振荡 10 秒。 2. 加入 75 uL 溶液 B, 在振荡器上以最大速度振荡 10 秒。 3. 7000×g 室温离心 2 分钟，溶液将形成两个相，其中组织切片位于下相。 4. 小心吸弃上层液体。 5. 将离心管放入真空抽干机中抽干下层的液体，一般需要一小时。 6. 加入 150 uL 溶液 C, 55℃保温过夜。 7. 短暂离心，95℃保温 10 分钟。 8. 加入 0.5 mL 溶液 D, 充分震荡半分钟。 9. 加入 0.1 mL 自备氯仿, 振荡器上充分振荡混均 30 秒。 10. 13000-5000×g 室温离心 3-5 分钟。 11. 将上清液（约 0.6 mL）转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中。下层有机相（蓝色）和中间层含有 DNA 和蛋白质，避免触及，否则将产生蛋白质和 DNA 																											

污染。为保险起见，可以留下 100 uL 上清液不取。同时吸取上清时最好缓慢进行，否则容易吸出交界面的不可见的 DNA。

12. 在上清液中加入两倍体积的微量核酸沉淀剂，振荡器上振荡 30 秒混匀。
13. 13000-15000 g 室温离心 5 分钟，离心底的侧面将形成 RNA 沉淀。如果需要提高 RNA 回收率，可以将离心时间延长到 20 或 30 分钟。
14. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。
15. 在含 RNA 沉淀的离心管中加入 1mL 自备的 75%乙醇，振荡混匀 30 秒。
16. 13000-15000 g 室温离心 1 分钟。
17. 小心吸弃上清液，注意不要吸弃 RNA 沉淀。
18. 短暂快速离心，用移液枪小心吸弃残留乙醇(约 50 uL)。注意不要吸弃沉淀。此步十分重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的使用。
19. 室温放 1-2 分钟后立即加入 50-100 uL RNA 溶解液使 RNA 沉淀溶解。千万不要用真空离心法使 RNA 沉淀过于干燥，否则 RNA 将变得十分难溶。样品立即使用或存放于-80℃待用。
20. RNA 完整性的电泳检测：
21. RNA 产量产率测定：将 5-10 μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 之间)检测其在 OD260 的光吸收。通过光吸收可以得出 RNA 浓度 (1 OD260 的 RNA=40 μg/mL)，进而计算出 RNA 的产量 (浓度×体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。
22. RNA 纯度测定:无污染的总 RNA 的 OD260/OD280 一般在 1.8-2.1 之间(具体数值与其碱基组成和溶液成分等多种因素有关),高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质污染，但一般不影响 RT-PCR 等反应。

背景资料

甲醛固定组织细胞的分子机制—蛋白质部分



关联产品

一步离心式石蜡清除降剂(CAT#:70302-100)