天净沙系列

CAT#:220715

低温运输，-20℃保存

天净沙

免 RNA 提取 FFPE RT-PCR 试剂盒

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

福尔马林固定和石蜡包埋（FFPE）组织是疾病机制的回顾性临床研究中使用最为广泛的标本。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。本产品专门用来免提取释放切片核酸的试剂盒，它具有如下特点:

1. 免核酸提取，可以直接作为核酸扩增的模板。
2. cDNA 第一链合成试剂盒可灵活选用随机引物、Oligo dT 引物或专一引物，适合各种情况。
3. PCR mix 含有上样染料，所以 PCR 产物可直接上样电泳。
4. 两管式操作,RT 和 PCR 分步进行,便于单独优化 RT 反应和 PCR 反应的条件。
5. 扩增效率高，最高可扩增 1 kb 以上的 RNA。
6. 本试剂盒足够对 50 张石蜡切片进行免提取 RT-PCR 扩增。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
FFPE RNA 释放剂	220715a	30 mL	30 mL 本色瓶
2×SYBR qRT-PCR 缓冲液	990102a	500 μL	0.5 mL 本色盖
SYBR qRT-PCR 酶混合液 v2	990102bv2	50 μL	0.5 mL 红盖管
RNase-free 水	980403	1 mL	1.5 mL 黄盖管
使用手册	220715sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

阳性对照和阴性对照，RNase-free 的 1.5 mL 离心管（耗材）

使用方法

一、样品 RNA 的释放

1. 如果有 N 个样品，可设置 N+2 个提取，多出的一个是 PC（样品制备阳性对照），一个是 NC（样品制备阴性对照）。可以用水作为制备的阴性对照。
2. 将 1-5 片厚度为 6-8 μm 的石蜡包埋组织切片转移到 1.5mL 塑料离心管中，并加入 1 mL FFPE RNA 释放剂溶，振荡器上以最大速度振荡 10 秒。
3. 室温放置 10 分钟。
4. 室温 14000×g 离心 1 分钟。
5. 将上清（含 RNA）转移到一个新的 RNase-free 离心管中。此上清液可以直接用做 PCR、RT-PCR、LAMP 和 RT-LAMP 扩增的模板，未用完的可以放-80℃长期保存。

二、设置 RT-PCR 反应（20μL 体系）

6. 标记 N+4 个 PCR 管，其中 N+2 个用于上步得到的 RNA 样品，额外增加的两个管一个用于 RT-PCR 阳性对照，另一个用于 RT-PCR 阴性对照。按照下表在各 PCR 管中加入下列成分：

成份	N+2 个 样品管	RT-PCR 阴性对照	RT-PCR 阳性对照
2×SYBR qRT-PCR 缓冲液	各 10 μL	10 μL	10 μL
SYBR qRT-PCR 酶混合液 v2	1 μL	1 μL	1 μL
自备 RT-PCR 引物，10 pmol/μL	各 2 μL	2 μL	2 μL
制备的 N+2 个 RNA 模板	各 7 μL	不加	不加
超纯水	不加	7 μL	不加
自备 RT-PCR 阳性对照（如果有）	不加	不加	7 μL

1. 上机进行 RT-PCR。下面的 RT-PCR 反应参数仅供参考：

过程	**温度**	**时间**
逆转录	42℃	55 分钟
预变性	95℃	5 分钟
PCR 反应 （30 个循环）	95℃	15 秒
	55℃	60 秒
	65℃	60 秒
延伸	72℃	10 分钟

三、电泳分析

7. 取 10 μL 扩增产物进行常规琼脂糖电泳，检测扩增效果。

关联产品

石蜡包埋组织 RNA 纯化试剂盒