



## 核酸提取或纯化试剂 说明书

### 【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂  
商品名称：固定组织RNA提取试剂盒  
英文名称：RNApure FFPE Kit

### 【包装规格】

50次/盒

### 【预期用途】

本试剂盒适合于从福尔马林固定、石蜡包埋的组织中有效提取纯化总RNA，用于临床体外检测使用。

### 【检验原理】

本试剂盒使用专门优化的裂解液和蛋白酶K，释放福尔马林固定或组织切片样本中的RNA，无需过夜操作；消化后的样品在较高的温度孵育后，去除由福尔马林交联造成的抑制作用，有效释放组织切片中的RNA，而避免危害RNA的完整性；优化的缓冲系统使裂解液中的RNA可特异结合到硅胶吸附膜上，而其他污染物可流过膜；可通过漂洗步骤有效去除，经过洗脱的RNA可直接用于RT-PCR、Real-Time PCR和印迹分析等实验。

## 【主要组成成分】

试剂名称	50 次/盒	
	规格	数量
裂解缓冲液 1	15 ml /瓶	1 瓶
裂解缓冲液 2	25 ml/瓶	1 瓶
漂洗缓冲液（浓缩液）	11 ml/瓶	1 瓶
洗脱缓冲液	10 ml/瓶	1 瓶
蛋白酶 K	12.5 mg/支	1 支
蛋白酶 K 保存液	1.25 ml/支	1 支
吸附柱	50 个/包	1 包
过滤柱	50 个/包	1 包
收集管	50 个/包	1 包

需要实验者自行准备的试剂：无水乙醇（新开封或提取RNA专用）、10 mM PBS (pH 7.4)、二甲苯。

## 【储存条件及有效期】

0-35℃保存，有效期12个月。

可在0-40℃运输，运输时间建议不超过7天。

## 【样本要求】

1. 适用标本类型：福尔马林固定、石蜡包埋组织。
2. 标本处理与保存：常温处理保存。
3. 样本运输：常温运输。

## 【检验方法】

实验前准备：向蛋白酶K中加入0.625 ml蛋白酶K保存液使其溶解，-20℃保存。配制好的蛋白酶K溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

### 1. 样本处理：

1.1 石蜡包埋样本：用手术刀将组织块中多余的石蜡修剪掉，露出组织。

1.2 福尔马林等固定液中的样本：取约20 mg的样本，切成小块，置于离心管中，加入500 μl 10 mM PBS (PH7.4)，涡旋振荡，12,000 rpm (~13,400×g) 离心1分钟，重复3次，可直接进行第7步操作。

2. 将组织块切成5-10 μm的薄片。

**注意：如果样品表面已经暴露在空气中，请将接触空气的2-3片弃掉不用。**

3. 取约1×1 cm<sup>2</sup>的切片（共约4-5片切片）置于离心管（自备）中，加入1 ml二甲苯，盖紧管盖，涡旋震荡10秒。

4. 12,000 rpm离心2分钟，小心吸弃上清，注意不要吸弃沉淀。
5. 加入1 ml无水乙醇，涡旋震荡混匀。12,000 rpm离心2分钟，弃上清，注意不要吸弃沉淀。  
**注意：乙醇可以除去样品中残余的二甲苯。**
6. 打开管盖，室温或最高至37°C孵育10分钟，直至无乙醇残留。
7. 加入150  $\mu$ l裂解缓冲液1，重悬沉淀；加入10  $\mu$ l 蛋白酶K，涡旋震荡混匀。
8. 56°C孵育15分钟，直至样品完全溶解。80°C孵育15分钟。短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。  
**注意：1 ) 此步骤的目的是修复由甲醛变性的核酸，孵育的温度过高或时间过长可能造成RNA断裂，产生RNA碎片。**  
**2 ) 56°C孵育后的样品可置于室温，直至水浴锅或干浴锅温度达到80°C后再把样品置于80°C孵育。**
9. 加入320  $\mu$ l裂解缓冲液2，涡旋震荡彻底混匀。
10. 将步骤9中所得到的溶液全部加入到已装入收集管的过滤柱中。12,000 rpm离心1分钟，收集滤液。
11. 在步骤10得到的滤液中，加入720  $\mu$ l无水乙醇，涡旋震荡彻底混匀。  
**注意：加入无水乙醇后，可能有少量沉淀物析出，但不影响后续操作。**
12. 将步骤11中所得的溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
13. 向吸附柱中加入500  $\mu$ l漂洗缓冲液（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
14. 重复步骤13。
15. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟以彻底晾干。  
**注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。**
16. 将吸附柱置于一个新的收集管中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-50  $\mu$ l洗脱缓冲液，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液，-20°C保存RNA。  
**注意：1 ) 洗脱缓冲液体积不应小于20  $\mu$ l，体积过小影响回收率。**  
**2 ) 如果要提高RNA的产量，可用20-50  $\mu$ l新的洗脱缓冲液重复步骤16。**  
**3 ) 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤16。**

## 【注意事项】

1. 在试验前，应仔细阅读本说明书。
2. 获得样品后，要尽快将样品在4%-10%的福尔马林中固定，固定时间以14-24小时为宜，时间过长易导致RNA断裂，影响下游实验。
3. 确保包埋前的样品彻底脱水，残留的福尔马林会抑制蛋白酶K的作用。
4. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在漂洗缓冲液（浓缩液）中加入无水乙醇。
5. 使用前请检查裂解缓冲液1和裂解缓冲液2是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将裂解缓冲液1和裂解缓冲液2于56°C水浴重新溶解。

#### 【基本信息】

生产企业名称：江苏康为世纪生物科技有限公司

住所：江苏省泰州市药城大道一号TQB大楼4楼

邮政编码：225300

电话：0523-86201183 传真：0523-86816890

网址：[www.cwbiotech.com](http://www.cwbiotech.com)

售后服务单位名称：江苏康为世纪生物科技有限公司

联系方式：0523-86201183

生产地址：泰州市药城大道一号TQB大楼4楼，泰州市中国医药城口泰路西侧、陆家路东侧G52幢58号1层、2层，59号4层东侧

生产备案凭证编号：苏泰食药监械生产备20140018号

#### 【医疗器械备案凭证编号】

#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2018年09月25日

修改日期：2019年04月10日