

## BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法)

产品编号	产品名称	包装
R0085S	BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次

### 产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法) (BeyoMag™ Paraffin-embedded Tissue RNA Purification Kit with Magnetic Beads), 也称石蜡包埋组织总RNA抽提试剂盒(磁珠法)、石蜡包埋组织RNA提取试剂盒(磁珠法)、FFPE组织切片RNA抽提试剂盒(磁珠法)等, 是一种采用环保脱蜡方式去除石蜡后抽提切片中总RNA的试剂盒。抽提获得的RNA包含大分子量RNA和小RNA (<200nt), 也被称为总RNA (Total RNA), 可用于反转录、qRT-PCR或转录组测序等下游实验。
- 本试剂盒也可以用于福尔马林、多聚甲醛等固定的组织的RNA抽提。
- 福尔马林固定石蜡包埋(Formalin fixation and paraffin embedding, FFPE), 常应用于癌症等疾病研究中保存离体组织的形态学和组织学结构, 以便于运输和储存, 是病理样品长期保存的主要方法之一[1]。组织样品经福尔马林固定时, 组织内细胞中的核酸和蛋白质等分子间随机交联, 核酸出现片段化, 因此难以获得高质量核酸。本试剂盒采用环保脱蜡法去除石蜡, 以特殊的裂解条件释放FFPE组织样本中的RNA分子, 最大程度地降低了福尔马林固定时组织内细胞中RNA与其它分子交联的不利影响, 经本试剂盒抽提获得的RNA纯度高、完整性好、质量稳定。
- 本试剂盒抽提RNA的实验流程如图1所示。首先使用环保的脱蜡剂和蛋白酶K将FFPE样品脱蜡、消化, 释放出来的RNA在特定条件下与磁珠特异性结合。在外界磁场(如磁分离架)的作用下, 磁珠与相应溶液可以快速高效地分离。随后通过四次洗涤去除各种杂质, 最后通过洗脱液把RNA洗脱下来。

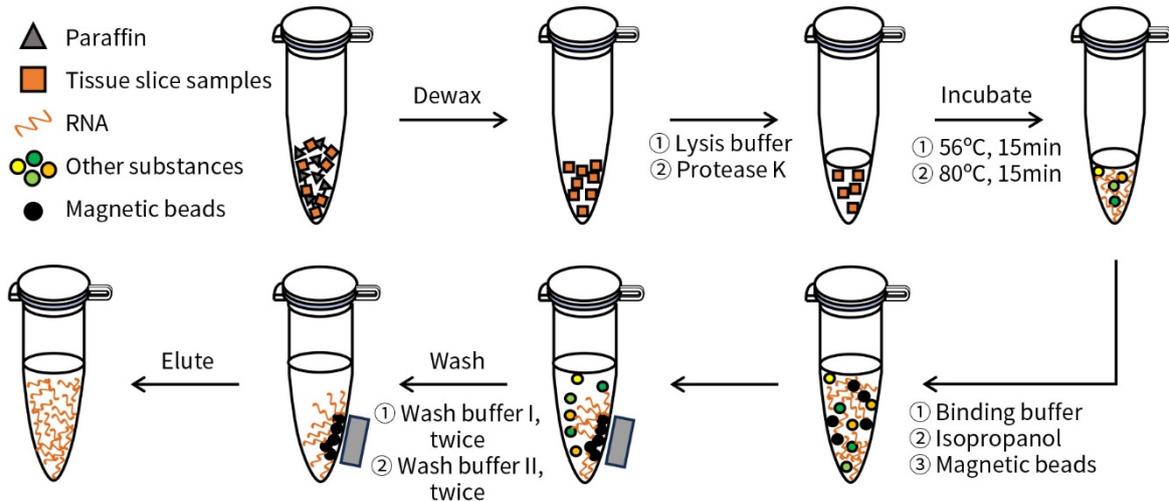


图1. 碧云天BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法) (R0085)的实验流程图。

- 本试剂盒抽提获得的石蜡包埋组织样品总RNA纯度高。抽提获得的RNA A260/A280的范围通常在1.7-1.9之间。本试剂盒与同类产品的抽提效果对比图参见图2。

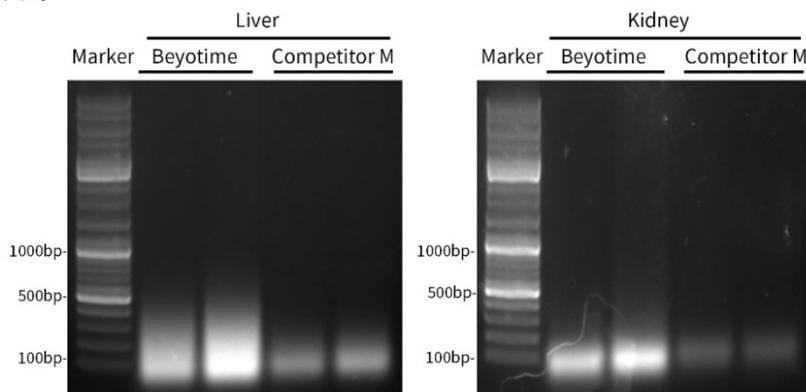


图2. 碧云天BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法) (R0085)与M品牌同类产品(Competitor M)的RNA抽提效果对比图。样品为小鼠肝脏和肾脏组织石蜡切片, 样品用量为6片10μm厚切片。抽提后洗脱体积均为100μl, 取10μl的洗脱样品与2μl BeyoRed DNA上样缓冲液(6X) (D0072)混合均匀后, 在1%琼脂糖凝胶中电泳30分钟后拍照。如图所示, 本试剂盒用于抽提小鼠肝脏、肾脏FFPE样品的RNA时, 抽提得到的RNA的量优于M品牌的同类试剂盒。注: 抽提得到的RNA经DNase I处理。实际结果会因样品、实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本试剂盒使用安全、高效。**本试剂盒通过特殊的磁珠进行RNA分离纯化, 能有效避免常规方法抽提RNA时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒操作快速、便捷。**本试剂盒采用磁珠纯化, 无需繁琐的RNA沉淀步骤, 纯化RNA操作过程仅需约15-20分钟即可完成。和国外同类磁珠纯化产品相比, 所需操作步骤和操作时间基本一致。碧云天同时提供RNAeasy™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0033), 而磁珠法抽提得到的RNA包含<200nt的小RNA或部分降解、断裂RNA, 抽提更完全。
- 本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的总RNA含有少量DNA, 但如果按照可选步骤加入DNase, 就可以获得不含DNA的高纯度总RNA。
- 本试剂盒小包装可用于50个样品的总RNA抽提。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0085S-1	脱蜡剂	50ml
R0085S-2	裂解液	10ml
R0085S-3	结合液	11ml
R0085S-4	洗涤液I (首次使用前加34ml无水乙醇)	26ml (+34ml)
R0085S-5	洗涤液II (首次使用前加39ml无水乙醇)	26ml (+39ml)
R0085S-6	洗脱液	12ml
R0085S-7	蛋白酶K	600μl
R0085S-8	BeyoMag™ RNA磁珠	1ml
R0085S-9	DNase	100μl
R0085S-10	Reaction Buffer (10X)	500μl
—	说明书	1份

#### 保存条件:

蛋白酶K、DNase和Reaction Buffer (10X) -20°C保存, 其余均室温保存, 一年有效。其中, BeyoMag™ RNA磁珠长期不使用时, 可以4°C保存, 4°C可以保存更长时间。蛋白酶K室温(15-25°C)存放一周, 活力无明显下降。

#### 注意事项:

- 如果希望获得更高质量的RNA, 宜尽量使用新鲜固定和包埋的组织样品。拿到组织样品后尽快在4-10%福尔马林中固定, 固定时间最好在8-24小时之间或更短时间, 长时间固定会使RNA断裂更为严重。
- 样品包埋前应确保彻底脱水, 残留的甲醛可能抑制蛋白酶K的消化等相关实验步骤。
- 本试剂盒抽提RNA依赖于样品类型、储存时间以及固定条件。样品固定时间和保存时间过长(>1年)易破坏RNA完整性, 无法抽提出长片段。
- 石蜡包埋组织抽提得到的RNA, 由于样品的特殊性, 存在可能的断裂或降解, 通常不建议用于需要全长RNA的下游应用。
- 温度较低时裂解液或结合液中可能会有沉淀产生, 属正常现象。使用前必须检查一遍, 如有沉淀, 55°C水浴孵育使沉淀溶解, 混匀后使用。
- **第一次使用前小包装洗涤液I需添加34ml无水乙醇, 洗涤液II需添加39ml无水乙醇, 混匀, 并在瓶上做好标记。**
- 本试剂盒须将FFPE样品56°C和80°C孵育, 推荐使用碧云天的BeyoBath™干式恒温金属浴(1.5/2ml×40) (E6662)。
- 使用本试剂盒须提前备好无水乙醇和异丙醇。
- 除特别说明外, 每次Vortex应控制在5-10秒左右, 推荐使用碧云天的BeyoVortex™调速式涡旋混匀仪(E6699)或BeyoVortex™基础型涡旋混匀仪(E6788)。
- 如果不使用试剂盒提供的DNase进行处理, 本试剂盒抽提得到的RNA会含有少量DNA。后续如进行某些对DNA残留敏感的实验时, 需要在使用说明步骤3b后, 在磁珠中加入适量DNase进行消化, 具体请参考使用说明。如果基因组DNA消化不充分, 可以加大DNase的用量或延长孵育时间。DNase用量如果需要加大, 可以考虑订购碧云天的RNase-free的DNase I (D7073/D7076)。
- 本试剂盒需自备磁分离装置, 推荐使用碧云天的1.5/2ml磁分离架(FMS004/FMS008/FMS012/FMS016/FMS024)。
- 磁珠在静置后会发生沉降, 使用前一定要适当涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。
- 磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象, 可以在磁珠聚集后晃动管内液体, 使挂壁的磁珠流下。
- 请使用推荐的样品量。如果样品量过大, 可能造成磁珠聚集, 会影响洗涤进而影响抽提获得的RNA纯度。发生磁珠聚集时, 洗涤时需尽量分散磁珠, 这样可有效改善抽提效果。如果发生磁珠聚集现象, 建议在后续实验中适当减少样品用量。
- 本试剂盒提供的所有试剂都是RNase-free, 操作时应小心, 避免被RNase污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是RNase-free。

如果耗材可能有RNase污染,可考虑用0.01%的DEPC水浸泡过夜,然后高温高压灭菌烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话,以防RNase污染。建议戴一次性口罩。

- 对于操作环境中RNA酶的去,推荐使用碧云天生产的RNase and DNase Away (R0123)以去除实验桌面上或其它接触面上的RNase。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行,操作时无需冰浴。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明:

### 1. 样品处理。

- 石蜡包埋组织切片:取2-8张的石蜡切片(5-10 $\mu$ m厚,表面积小于1 $\times$ 1cm<sup>2</sup>)。

如果样品表面暴露于空气中,尽量避免使用。

- 福尔马林固定组织:取10-25mg福尔马林固定液中的组织,用手术刀充分切碎后,置于1.5ml离心管中,加入500 $\mu$ l的PBS, pH7.4 (DNase, RNase & Protease free, Sterile) (ST478), Vortex震荡混匀, 12,000 $\times$ g离心1分钟后充分去除上清,再重复清洗2次,然后从步骤2h开始操作。

### 2. 脱蜡和裂解。

- 将石蜡切片置于1.5ml离心管中,加入600 $\mu$ l的脱蜡剂,剧烈Vortex 30秒,以充分脱蜡。

福尔马林固定液中的组织样品无需加脱蜡剂,直接转入步骤2h开始操作;如果石蜡样品过多,可以将脱蜡剂用量增加至1ml。

- 室温,  $\geq$ 14,000 $\times$ g离心5分钟。

- 使用吸头小心吸去上清,注意不要碰到沉淀。

- 加入1ml无水乙醇, Vortex混匀。

- 室温,  $\geq$ 14,000 $\times$ g离心5分钟。

- 使用吸头小心吸去上清,注意不要碰到沉淀。

可以用新的10 $\mu$ l吸头小心吸去残留的乙醇,有利于乙醇挥发。

- 打开管盖,室温放置5-10分钟直至残留的乙醇完全挥发。

残留的乙醇会对RNA产生影响,可以将离心管置于37 $^{\circ}$ C环境下挥发乙醇。

- 加入150 $\mu$ l裂解液和10 $\mu$ l蛋白酶K, Vortex混匀, 56 $^{\circ}$ C金属浴或水浴孵育15分钟或直至样品完全裂解。

- 将完全裂解的组织样本置于80 $^{\circ}$ C孵育15分钟,之后短暂离心使管盖上的蒸发液体回到管中。

80 $^{\circ}$ C孵育对修复RNA变形解交联至关重要,但是必须严格控制孵育的温度和时间,否则可能产生更多的RNA碎片,因此应先将金属浴或水浴加温至80 $^{\circ}$ C再放入样本进行孵育。

- 室温, 14,000 $\times$ g离心5分钟,转移上清液(150 $\mu$ l)至新的离心管中,注意不要碰到沉淀。

- 向上述新的离心管中加入200 $\mu$ l结合液, Vortex混匀;再加入300 $\mu$ l异丙醇, Vortex混匀。

加入结合液和异丙醇后可能会产生白色沉淀,需立即Vortex混匀彻底混匀,但不会干扰后续实验。

### 3. 纯化RNA。

- 向步骤2k中的混合物加入20 $\mu$ l BeyoMag<sup>™</sup> RNA磁珠悬液(使用前务必混匀),轻柔混匀后,室温放置3-5分钟。将离心管置于磁力架的磁场中,待磁珠完全聚集后,小心吸除残液。

磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要,可适当增加磁珠用量,延长结合时间以提高得率。

- 加入500 $\mu$ l洗涤液I,轻柔震荡使磁珠分散开,颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中,待磁珠完全聚集后,尽量吸净残液。

- 选做:如果略去本步骤,通过本试剂盒抽提得到的RNA会含有少量基因组DNA。后续如进行某些对基因组DNA残留较敏感的实验时,可在上一步骤洗涤后,在磁珠中加入80 $\mu$ l含2 $\mu$ l DNase的酶溶液(每80 $\mu$ l酶溶液按照70 $\mu$ l水加8 $\mu$ l Reaction Buffer (10X)再加2 $\mu$ l DNase混合配制而成),37 $^{\circ}$ C震荡消化15分钟。消化结束后,不需要任何额外操作,直接进入步骤3d。

- 加入500 $\mu$ l洗涤液I,轻柔震荡使磁珠分散开,颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中,待磁珠完全聚集后,尽量吸净残液。

- 加入600 $\mu$ l洗涤液II,轻柔震荡使磁珠分散开,颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中,待磁珠完全聚集后,尽量吸净残液。

- 重复步骤3e一次。

- 将离心管室温放置5-10分钟,或置于37 $^{\circ}$ C烘箱5分钟,确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。

- 加入50-100 $\mu$ l洗脱液,轻柔震荡使磁珠悬于溶液中,室温孵育3-5分钟,其间甩动离心管1-2次。将离心管置于磁场中,待磁珠完全聚集后,小心吸取溶液至新离心管中,置于-20 $^{\circ}$ C保存。所得溶液即为纯化的总RNA。

注1:如果有必要,可以使用超纯水洗脱RNA,洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响,使用超纯水洗脱时应保证其pH值在7.0-8.5之间。推荐BeyoPure<sup>™</sup> Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。

注2:如需获得更高浓度的样品,可把洗脱液的体积减小至20 $\mu$ l,但洗脱下来的RNA量会相对减少。室温较低时,洗脱液在37 $^{\circ}$ C预热片刻对得率有所帮助。此外,洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次,可提高得率约10-30%;或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次,会获得约为第一次洗脱量15-40%的RNA。

## 参考文献:

- Lee H, Ryu HS, Park HC, et al. Int J Mol Sci. 2022. 23(21):12923.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
R0024	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0026	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0027	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0028	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0032	RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0033S	RNAeasy™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次/50次/200次
R0077	BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒	10次/50次/200次
R0091	RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次/50次/200次
R0073	BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒	50次/200次/800次
R0083	BeyoMag™磁珠法病毒RNA/DNA抽提试剂盒	10次/50次/200次
R0085S	BeyoMag™石蜡包埋组织RNA抽提试剂盒(磁珠法)	50次
ST533	Proteinase K (20mg/ml)	0.2ml/1ml/5ml
ST535	Proteinase K	100mg/500mg/2g
D7073	DNase I	200U
D7076	DNase I	1000U
ST975	环保脱蜡剂(二甲苯替代品)	50ml/250ml/1L
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS015	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS025	BeyoMag™磁分离架(24孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒

Version 2024.09.22