



博鍊石蠟包埋組織 RNA 萃取試劑 Stellar FFPE RNA Extraction Kit

**83022-RT****For Research Use Only**
僅供科研使用

操作本產品套組前請詳閱產品說明書

1. 效能

博鍊石蠟包埋組織 RNA 萃取試劑僅供科研使用，不用於疾病診斷與治療等臨床用途。本產品搭配自動核酸萃取儀或手動萃取使用，利用熱溶解外部石蠟後，以蛋白質水解酵素(Proteinase K Buffer)與離散劑溶液(Chaotropic salt Buffer)裂解石蠟包埋組織使核酸釋出，再以矽化磁珠技術對檢體進行核酸分離與純化。本產品應由熟悉分子生物技術原理之受訓合格人員操作。

2. 石蠟包埋組織 RNA 萃取技術原理

- I. 利用熱能溶解石蠟使組織裸露
- II. 利用蛋白質水解酵素(Proteinase K) 裂解檢體以釋出核酸
- III. 核酸在裂解緩衝液條件下與磁珠結合
- IV. 將已結合核酸之磁珠與上清液進行磁分離
- V. 以洗滌緩衝液清洗移除未結合之物質，如蛋白質、細胞碎片、PCR抑制劑等
- VI. 經溶析反應將純化後的核酸自磁珠上分離

3. 警語與注意事項

- 僅供研究使用，不適用於臨床診斷。
- 此檢測試劑套組僅供受訓合格的實驗室人員使用。
- 切勿使用過期的試劑套組或試劑。
- 檢體樣品製備應遵循已發佈之準則執行，如臨床和實驗室標準協會發佈的作業指南。實驗工作區域及實驗相關耗材於使用前皆須徹底清潔，建議先使用0.5%次氯酸鈉漂白水(家用漂白水以1:10稀釋)擦拭後，再以70%酒精進行清潔。
- 萃取試劑已經過適當地稀釋處理，不建議自行再進行稀釋等配製。
- 所有化學、生物原料、以及來自人類來源的原料或檢體均需被視為有潛在風險或具感染性，應依照感染性廢棄物作適當處置。
- 部分試劑內容物含有害物質，請遵循良好實驗室規範和通用預防措施指南，以避免任何風險。
- 依照標籤或說明書指示儲存萃取試劑及其內容物。

- 不得混用不同批次生產的試劑。
- 遵循地方法規規範處理未使用的試劑、檢體和實驗操作廢棄物。
- 請遵守一般實驗室安全守則：
 - 請勿用口吸量。
 - 請穿著手套、實驗衣及護目裝置。
 - 請勿於實驗室飲食及吸菸。
 - 請於操作檢體或試劑後清潔雙手。
- 避免RNase污染：
 - 建立無 RNase 的工作環境。
 - 在所有實驗步驟中穿戴手套。
 - 經常更換手套。
 - 使用無菌的和拋棄式聚丙烯管和內濾式微量吸管。
 - 試驗過程中盡可能保持反應管上蓋關閉。
 - 使用 RNase 清除劑來清潔工作台表面、吸量管和實驗中任何其他物品。
- 物質安全資料表可向博錄客服人員索取或經由博錄官網下載。

4. 產品使用限制

- 可靠的核酸萃取結果取決於適當的檢體樣品採集、運送、儲存和處理。
- 本產品應由經合格培訓的人員遵循本手冊建議之操作流程使用。任何偏差或違背建議都可能影響萃取性能，從而影響最終萃取結果。
- 本手冊所述之檢體樣品皆經過驗證。若自行使用其他檢體樣品類型可能會影響試劑萃取性能。
- 本手冊所使用之試劑內容物皆經過驗證。若自行使用其他溶液取代可能會影響試劑萃取性能。

5. 試劑內容物

博錄石蠟包埋組織 RNA 萃取試劑可提供 96 個試驗反應操作，其內容物詳列如下：

(1) FFPE Extraction KIT Silica Magnetic Beads

料號: 20705-R

數量及體積: 1 瓶，4.5 mL。

描述: 用於與核酸結合

成份: 二氧化矽磁珠溶液

(2) FFPE RNA Extraction KIT Deparaffinization Buffer

料號: 20711-R

數量及體積: 1 瓶，16 mL。

描述: 除去石蠟

成份: 界面活性劑、Tris 緩衝液

(3) FFPE Extraction KIT Lysis Buffer

料號: 20707-R

數量及體積: 1 瓶，47 mL; 使用前請加入 **26 mL 純異丙醇**。

描述: 裂解檢體

成份: 胍鹽、界面活性劑、Tris 緩衝液

(4) Extraction KIT Proteinase K Buffer

料號: 20708-R

數量及體積: 1 瓶, 2.1 mL。

描述: 裂解檢體

成份: 蛋白酶K、界面活性劑、Tris緩衝液

(5) Extraction KIT Wash Buffer

料號: 20709-R

數量及體積: 2 瓶, 22 mL; 使用前請加入52 mL絕對酒精。

描述: 去除雜質。以濃縮液形式提供。

成份: 生理食鹽液

(6) FFPE Extraction KIT Elution Buffer

料號: 20710-R

數量及體積: 1 瓶, 12 mL。

描述: 用於提取核酸

成份: TE緩衝液

(7) FFPE RNA Extraction KIT DNase Buffer

料號: 20712-R

數量及體積: 1 瓶, 2.1 mL。

描述: 去除DNA

成份: DNA水解酶

6. 試劑儲存與運送

- 博錄石蠟包埋組織 RNA 萃取試劑所附的 **DNase Buffer** 應於收到貨後儲存於 **-15 至 -25 度**, **Proteinase K Buffer** 應於收到貨後儲存於 **2 至 8 度**, 其餘試劑皆可於室溫儲存, 所有未開封試劑組成份若遵循標籤指示適當儲存, 其效期可保障至標籤所示的有效期限。
- 博錄石蠟包埋組織 RNA 萃取試劑應於室溫運送。收到試劑盒時, 請先目視檢查萃取試劑外包裝, 若發現有破裂損壞或缺少內容物等情況, 請勿使用並儘速聯繫博錄客服人員(service@plexbio.com)。

7. 萃取反應所需材料與儀器設備 (試劑盒未提供)

- 博錄自動核酸萃取儀 (PlexBio; Stellar96 Nucleic Acid Extraction System; 料號: 80053)
- 深孔盤 (PlexBio; 料號: 80055)
- 磁棒套 (PlexBio; 料號: 80056)
- 震盪器
- 絕對酒精
- 純異丙醇
- 拋棄式無粉手套
- 專用的微量吸量器*
- 濾芯吸量管*
- (自動萃取選用) 藥品槽 (StarMoonBio; 100 mL Reagent Reservoir; 料號: SMB-O1005)
- (手動萃取) 磁座 (PlexBio; Magnetic Stand (For 1.5-2 mL); 料號: 80015) 或相似品 (Merck; PureProteome™ Magnetic Stand; 料號: 11760644、Sigma-Aldrich; Magna GriP™ Rack (8 well); 料號: 20-400)

*使用專用微量吸量器進行樣品純化。請勿在不同步驟之間共用設備。微量吸量器於適用體積範圍的準確度誤差小於3%。必須使用氣溶膠濾芯或 RNA 和 RNase-free 吸量管。

8. 檢體條件

※ 使用者需確認待純化的檢體皆使用正確的檢體採集及儲存條件 (如溫度及儲存時間)，確保檢體萃取的起始條件皆符合需求。

檢體採集

須由專業人員進行組織採集及後續組織包埋及切片處理，其均須符合常規操作，每片組織切片不得超過 10 μm。

萃取後 RNA 樣本儲存

檢體萃取請依循製造商之使用說明操作，萃取後的 RNA 樣本若立即使用可儲存於 2-8°C 或於 -80°C 長期儲存。

9. 萃取流程開始前

重要操作說明：

必須使用單獨的專用區域及設備進行樣本的純化。不同區域不可共用設備(包括實驗衣)。所有的設備及表面區域皆應在每次使用之前及之後清潔(例如，使用 0.5-1% 次氯酸鈉溶液)。所有的工作皆應遵照核可的準則(例如臨床及實驗室標準協會所發布者)進行。

開始進行核酸萃取前，請根據以下說明準備緩衝液：

- (1) 使用前請先檢查裂解緩衝液(Lysis Buffer)和洗滌緩衝液(Wash Buffer)是否有鹽類結晶沉澱物。若發現沉澱物，請在 80°C 水浴中加溫緩衝液 15 分鐘，或直至沉澱物溶解，待回溫後再進行步驟 2 及 3 的緩衝液配製。
- (2) 將 26 mL 純異丙醇(Absolute Isopropanol)添加到 FFPE Extraction KIT Lysis Buffer 中，並充分混合。
- (3) 將 52 mL 絕對酒精(Absolute Ethanol)添加到 Extraction KIT Wash Buffer 中，並充分混合。

10. 自動萃取流程

警告： 操作前請詳閱說明書並遵循每一個操作步驟。

請依循指示在博錄自動核酸萃取儀 (Stellar96 Nucleic Acid Extraction System; 料號: 80053)上操作核酸提取流程。有關儀器操作的詳細訊息，請參閱其使用操作手冊。

- (1) 開啟乾浴槽，並預熱至 65°C。
- (2) 取一片 10 μm FFPE 組織切片放入一乾淨的 1.5 mL 微量離心管底部。
- (3) 分別加入 150 μL Deparaffinization Buffer 與 20 μL Proteinase K Buffer。
- (4) 使用震盪器混和均勻，以微量離心機快速離心組織切片至管底，請確認組織切片充分浸泡於液體中，若貼於管壁請用微量吸量管將切片戳入液體中。
- (5) 將離心管放入乾浴槽 65°C 反應 20 分鐘。
- (6) 取出離心管，使用震盪器混和均勻後，以微量離心機快速離心，暫置於室溫。
- (7) 將乾浴槽設定至 95°C 預熱。
- (8) 將離心管放入乾浴槽 95°C 反應 30 分鐘 (建議離心管夾上防爆夾，以免蓋子受熱彈開)。
- (9) 將離心管插入冰中 2 分鐘，或暫置於室溫 5 分鐘。
- (10) 加入 20 μL DNase Buffer 於室溫反應 15 分鐘。(請將微量吸量管置於液體底部後再排出 DNase Buffer，並於底部抽吸混勻)。

- (11) 準備 6 個 96 孔深孔盤，並依序標示 **盤 1**、**盤 2**、**盤 3**、**盤 4**、**盤 5** 和 **盤 7**。
- (12) 依預計操作的檢體數量，於 **盤 1** 各微孔加入 **700 µL 裂解緩衝液(Lysis Buffer)** (已與純異丙醇混勻)。
- (13) 步驟 10 之離心管內液體上方會有蠟塊，請將微量吸量管插入管底，小心吸取約 200 µL 並盡量不要吸取到蠟塊。將吸取的 200 µL 移至 **盤 1**。
- (14) 依預計操作的檢體數量，分別於 **盤 3 及盤 4** 各微孔加入 **700 µL 洗滌緩衝液 (Wash Buffer)** (已與絕對酒精混勻)。
- (15) 依使用者需求，於 **盤 5** 各微孔加入 **50 ~ 100 µL 提取緩衝液(Elution Buffer)**。
- (16) 抽吸磁珠混合液(**Silica Magnetic Beads**)前，請將磁珠震盪混勻，並於 **盤 2** 各微孔加入 **40 µL 磁珠混合液 (Silica Magnetic Beads)**。為確保吸取時磁珠均勻懸浮，建議每加 3 排微孔後再重新震盪混勻磁珠混合液。
- (17) 於 **盤 2** 各微孔加入 **140 µL 二次水(ddH₂O)**。
- (18) 如圖示，於博錄自動核酸萃取儀操作主畫面進入萃取程序(Extraction Program)，選取 **FFPE DNA/RNA 萃取程序**。
- (19) 依指示畫面，將 **盤 1**、**盤 2**、**盤 3**、**盤 4** 和 **盤 5** 依序放入博錄自動核酸萃取儀的指定位置。
- (20) 將 **磁棒套(Magnetic Rod Cover)**放入 **盤 7**，並放入博錄自動核酸萃取儀的指定位置。
- (21) 確實放入各試劑深孔盤後，關閉儀器門，點選 **START**，自動進行核酸萃取程序。



- (22) 當萃取完成後，取出含有核酸提取液的 **盤 5** 進行後續試驗流程。若不進行後續試驗，請將 **盤 5** 貼膜或將各微孔萃取產物取出轉移至乾淨離心管後作適當保存。

備註:

- 操作過程中請小心吸取操作，避免液體滴落造成交叉污染。
- 正確放置孔盤工作站位置，並且不要重複使用孔盤。

11. 手動萃取流程

警告: 操作前請詳閱說明書並遵循每一個操作步驟。

- (1) 開啟乾浴槽，並預熱至 65°C。
- (2) 取一片 10 µm FFPE 組織切片放入一乾淨的 1.5 mL 微量離心管底部。
- (3) 分別加入 **200 µL Deparaffinization Buffer** 與 **20 µL Proteinase K Buffer**。
- (4) 使用震盪器混和均勻，以微量離心機快速離心組織切片至管底，請確認組織切片充分浸泡於液體中，若貼於管壁請用微量吸量管將切片戳入液體中。
- (5) 將離心管放入乾浴槽 65°C 反應 20 分鐘。











- (6) 取出離心管，使用震盪器混和均勻後，以微量離心機快速離心，暫置於室溫。
- (7) 將乾浴槽設定至 95°C 預熱。
- (8) 將離心管放入乾浴槽 95°C 反應 30 分鐘 (建議離心管夾上防爆夾，以免蓋子受熱彈開)。反應後將乾浴槽設定至 65°C 備用。
- (9) 將離心管置於冰上 2 分鐘，或暫置於室溫 5 分鐘。
- (10) 加入 **20 µL DNase Buffer** 於室溫反應 15 分鐘。(請將微量吸量管置於液體底部後再排出 DNase Buffer，並於底部抽吸混勻)。
- (11) 離心管內液體上方會有蠟塊，請將微量吸量管插入管底，小心吸取約 200 µL 並盡量不要吸取到蠟塊。將吸取的 200 µL 移至新的 1.5mL 離心管。
- (12) 加入 **700 µL Lysis Buffer** (已和純異丙醇混勻)，使用震盪器混和均勻。
- (13) 加入 **40 µL Silica Magnetic Beads**，使用震盪器震盪混勻 10 分鐘。
- (14) 以微量離心機快速離心並將離心管置於磁座吸附磁珠 1 分鐘後，去除離心管上清液。
- (15) 加入 **700 µL Wash Buffer**，使用震盪器震盪混勻 1 分鐘。
- (16) 以微量離心機快速離心並將離心管置於磁座吸附磁珠 1 分鐘後，去除離心管上清液。
- (17) 重複操作一次步驟 16-17。
- (18) 將離心管開蓋，置於 65°C 乾浴槽反應 5 分鐘，使其乾燥。
- (19) 加入 **60 µL Elution Buffer**，使用震盪器震盪混勻 1 分鐘，置於 65°C 乾浴槽反應 15 分鐘。
- (20) 以微量離心機快速離心並將離心管置於磁座吸附磁珠 1 分鐘後，吸取離心管管內核酸提取液，並移至新的 1.5 mL 微量離心管中，即完成手動萃取流程。
- (21) 萃取後可直接進行後續試驗流程，或將離心管作適當保存。

12. 疑難排解

下表列出了可能造成萃取效能不佳的問題原因及提供相對應的解決方案。

問題列表	可能原因	解決方案
提取的核酸純度/濃度不佳	<ol style="list-style-type: none"> 1. 檢體樣品降解或不純 2. 試劑溶液失去活性 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 重新採取檢體並確保採集過程及儲存條件皆符合要求。 2. 確保萃取試劑內容物正確儲存。請勿使用過期的萃取試劑溶液。
石蠟溶解效果不佳	<ol style="list-style-type: none"> 1. 石蠟黏在深孔盤管壁上 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 使用吸量管尖(Tip)將組織切片折成兩半，讓 Deparaffinization Buffer 可以完全浸泡組織切片。
交叉汙染	<ol style="list-style-type: none"> 1. 檢體樣品在操作過程中被汙染 2. 操作環境或實驗設備遭受汙染 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 操作檢體樣品時，小心吸取轉移，並避免其他樣品從上方通過。若手套意外接觸到檢體或任何試劑，請立即更換手套。 2. 在萃取程序開始前，請使用漂白劑擦拭乾淨並清潔工作區域和儀器設備表面。等待15分鐘後用70%的酒精擦拭兩次。萃取儀器執行UV消毒程序。

13. 符號

符號	定義	符號	定義
	僅供科研使用		銷售料號
	批號		詳閱使用說明書
	製造廠		保存期限
	溫度限制		注意
	內含足夠 <n> 次反應試劑		製造日期

商標、版權和知識產權

本產品以及相關儀器所使用的技術，其相關知識產權為博銖生技股份有限公司所有，包括但不限於一個或多個，美國與其它國家/地區之專利(US10302640B2, US10859910B2, EP3307867A1, US10436778B2, US10436776B2, US10019815B2, US9063044B2, US10894975B2)及申請中專利。除了購買產品的特定使用權，博銖生技股份有限公司並未授予任何其它許可證或權利。有關產品更多信息，請聯繫博銖生技股份有限公司。

 PlexBio®, IntelliPlex®, IntelliPrep™, πCode®, πCode™, DeXipher™, DigiPlex® 是博銖生技股份有限公司的使用商標或註冊商標，所有其它品牌及產品名稱則為其各自所有者之商標。

©2023 版權所有，博銖生技股份有限公司保留所有權利。

醫療器材商名稱：博銖生技股份有限公司

醫療器材商地址：臺北市內湖區陽光街 351 號 5 樓之 1、6 樓之 1、6 樓之 2、7 樓之 5

醫療器材製造廠名稱：博銖生技股份有限公司

醫療器材製造廠地址：臺北市內湖區陽光街 351 號 6 樓之 1、之 2

規格: 83022-RT