

RNA-FISH Kit

RNA 荧光原位杂交试剂盒（组织）

目录号

DLI402

产品简介

本产品适用于荧光原位杂交 RNA 的检测试剂盒的配制。RNA 荧光原位杂交技术（RNA Fluorescence in situ hybridization, RNA-FISH），是利用碱基互补配对的原则，使用经荧光素标记的 DNA 或 RNA 作为检测探针，定位、定量、定性分析目标 RNA 的技术方法。通过 RNA-FISH 技术可以观察目标 RNA（mRNA、lncRNA、circRNA、tRNA、miRNA、piRNA 等）的组织表达分布，细胞表达位置及表达丰度的信息。

产品组成

组分	20 T	96T	储存
密封圈	20 只	96 只	4°C/ RT
Hybridization solution	4 mL	20 mL	-20°C
SSCT	20 mL	100 mL	4°C
DAPI	4 mL	20 mL	4°C
Antifade Solution	1.5 mL	7.5 mL	-20°C

产品应用

- ◆ 适用于观察目标 RNA（mRNA、lncRNA、circRNA、tRNA、miRNA、piRNA 等）的组织表达分布及表达丰度的信息；
- ◆ 适用于观察目标 RNA（mRNA、lncRNA、circRNA、tRNA、miRNA、piRNA 等）的细胞表达位置及表达丰度的信息，分析 ncRNA 的功能机制类型。

产品特点

- ◆ 结合擎科生物的单分子检测探针，实现信号 100 到 2000 倍放大，更利于低丰度基因的检测；
- ◆ 优化的杂交体系，非特异性信号低，排除假阳性。

使用方法

1. 样本玻片制备

- 选择 1: 冰冻切片（时间 30 min）
 - 将冰冻切片置于 80%乙醇溶液中固定 10 min，重复本步骤 1 次（共固定 2 次）；
 - 将冰冻切片置于室温自然晾干 5~10 min；
- 选择 2: 石蜡切片（时间 4 h）
 - 切片置于 65°C 条件烤片 2~4 h；
 - 将石蜡切片依次置于 2 个二甲苯溶液染缸中，静置脱蜡 5 min；
 - 玻片依次置于 100%乙醇、90%乙醇、70%乙醇、无 RNase 纯水，每个梯度静置复水 5 min；
 - 置于室温自然晾干 30~60 min；
 - 将切片浸入 1×柠檬酸钠抗原修复液（pH 6.0, 95-100°C）中，维持 95°C 30~60 min；
 - 自然冷却至室温（约 30 min）后，DEPC 水冲洗 2 次；

2. 杂交（时间 1.5 h）

- 轻轻去除密封圈的贴纸，沿组织周边放置密封圈，并轻轻按压使其充分



密封，轻轻吸取通透液；

- b. 按照每个样本 2~15 μL 探针及 50 μL Hybridization solution 的比例配制探针-杂交液体系，在 PCR 仪中按照 95°C 变性 3 min 后，立即置于冰水浴中，静置保存待用；
- c. 转移探针-杂交液体系至玻片，快速置于水浴锅或金属浴中 85°C 变性 5 min；
- d. 立即转移玻片至 47°C 条件水浴锅或金属浴中，继续杂交 2 h；
- e. 加入 55°C 预热的 200 μL SSCT，55°C 静置浸洗 5 min 后轻轻吸弃洗涤液；
- f. 重复上一步骤 1 次（共洗涤 2 次）。

3. DAPI 染核（时间 30 min）

- a. 加入 200 μL DAPI 染色液，室温静置染色 5 min；
- b. 加入 200 μL SSCT，浸洗 5 min 后轻轻吸弃洗涤液；
- c. 重复上一步骤 1 次（共洗涤 2 次）；
- d. 室温避光晾干（约 10 min）；

4. 封片（时间 10 min）

- a. 用镊子轻轻去除密封圈；
- b. 滴加 1 滴 Antifade Solution 至组织切片中央，轻轻盖上盖玻片封片。

注意事项

- ◆ 实验操作使用无 RNase 水配制试剂，并使用无 RNase 耗材；
- ◆ 经烤片处理的切片或涂片可以室温干燥保存约 1 个月，建议尽早检测；
- ◆ 脱蜡和复水时间需根据固定时间优化，避免过度修复导致 RNA 降解；
- ◆ 1×柠檬酸钠抗原修复液（pH 6.0）需客户自备并提前预热；
- ◆ 探针浓度要求大于等于 5 μM ；
- ◆ 杂交操作步骤需要避光进行；
- ◆ 杂交操作可使用杂交仪、金属浴或水浴锅进行；
- ◆ 在金属浴杂交时建议增加一管含水的离心管，并使用盖子盖住切片及离

心管，达到保湿作用；

- ◆ SSCT 洗涤液需要 55°C 预热；
- ◆ DAPI 染色液需要覆盖组织切片；
- ◆ 封片后-20°C 避光储存待用，可以储存 1 个月；

保存条件

保存条件见产品组成，保质期 12 个月。4~8°C 运输。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

product@tsingke.com.cn。

关联产品推荐

产品名称	货号	应用
磁珠法通用型 RNA 提取试剂（96T）	TDN0401	RNA 提取
双荧光素酶报告基因检测试剂盒	TDA0301	基因表达调控研究

说明书版本号

1.1.1.1402.2506

