

RNA-FISH Kit

RNA 荧光原位杂交试剂盒（细胞）

目录号

DLI401

产品简介

本产品适用于荧光原位杂交 RNA 的检测试剂盒。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	96 T	储存
密封圈	96 只	4 °C/RT
Permeabilization Buffer	20 mL	4 °C
Hybridization solution	20 mL	-20 °C
SSCT	20 mL	4 °C
DAPI	20 mL	4 °C
Antifade Solution	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

- ◆ 实验全流程短，3 个小时完成 RNA-FISH 检测；
- ◆ 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

- A. 选择 1:细胞爬片（时间 30 min）
 - a. 将细胞爬片置于细胞培养皿中，1×PBS 中浸洗 1 min 后吸弃；
 - b. 加入 1 mL 4 %多聚甲醛，室温固定 10 min 后吸弃；
 - c. 加入 1 mL 无 RNase H₂O 浸洗 3 min 后吸弃；
 - d. 取一张新载玻片，轻轻去除密封圈的贴纸，轻轻放置密封圈并轻轻按压使其充分密封后，用镊子转移玻片正面朝上放至密封圈内；
 - e. 将爬片置于 45 ~ 65 °C 条件晾干 10 min；
- B. 选择 2:细胞涂片（时间 1.5 h）
 - a. 1000 rpm 离心 5 min 收集细胞；
 - b. 细胞沉淀加入 1 mL 4 %多聚甲醛，吹打混匀并室温固定 10 min 后，1000 rpm 离心 5 min 后吸弃上清；
 - c. 加入 1 mL 无 RNase H₂O 吹打悬浮并浸洗 5 min，1000 rpm 离心 5 min 后吸弃上清，重复本步骤 2 次（共浸洗 3 次）；
 - d. 加入无 RNase H₂O 悬浮细胞，细胞终浓度为 100 ~ 1000 细胞/μL；



e. 取一张新载玻片，轻轻去除密封圈的贴纸，轻轻放置密封圈并充分按压使其密封；

f. 转移 50 ~ 100 μL 细胞悬液至密封圈内，65 $^{\circ}\text{C}$ 烤片 1 h；

2. 杂交（时间 2.5 h）

a. 密封圈内加入 200 μL Permeabilization Buffer，室温静置通透 30 min 后，轻轻吸弃通透液；

b. 按照每个样本 2 - 10 μL 探针、40 μL Hybridization solution 比例配置杂交体系并充分混匀，在 PCR 仪器中按照 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 3 min 后，立即置于冰水浴中，静置保存待用；

c. 转移杂交体系至密封圈内，快速转移至水浴锅或金属浴中，经 85 $^{\circ}\text{C}$ 预热 5 min 后，立即转移至 47 $^{\circ}\text{C}$ 条件继续杂交 2 h，后吸弃；

3. DAPI 染核（时间 10 min）

a. 密封圈内加入 200 μL DAPI 染色液，室温静置染色 2 min 后，轻轻吸弃染色液；

b. 密封圈内加入 200 μL SSCT，室温静置浸洗 1 min 后轻轻吸弃洗涤液；

c. 在金属浴、烘箱或室温避光晾干玻片（约 2~10 min）；

4. 封片（时间 10 min）

a. 用镊子轻轻去除密封圈；

b. 爬片：取一张新载玻片，滴加 1 滴 Antifade Solution 至新载玻片中央，将细胞爬片倒扣在载玻片上封片；涂片：滴加 1 滴 Antifade Solution 至细胞区域中央，轻轻加盖盖玻片封片；

c. 封片后爬片用于荧光显微镜或激光共聚焦显微镜拍照。

注意事项

- ◆ 细胞固定的时间需要严格控制 3 ~ 5 min；
- ◆ 实验操作使用无 RNase 水配置试剂，并使用无 RNase 耗材；
- ◆ 细胞涂片样本极容易脱片，涂片前计数细胞总量，需要高浓度细胞悬液；
- ◆ 吸弃洗涤液时需要倾斜载玻片，充分去除洗涤液；

◆ 探针浓度要求大于等于 5 μM ；

◆ 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。

保存条件

保存条件见产品组成，保质期 12 个月。4~8 $^{\circ}\text{C}$ 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.I401.2505

