

4minSpin™ RNA Purification Kit**货号:** TQ402**保存条件:** 室温储存**产品介绍:**

本品可快速(4步室温离心, 6分钟等待时间)从 10^6 - 10^7 培养细胞提取总RNA(miRNA除外), 本品采用特殊配方无需酚氯仿抽提, 可以快速裂解样本并直接结合RNA到柱子膜上(省去加乙醇步骤), 并抑制核酸酶, 保持RNA完整性。所得的RNA可用于PCR(货号R201、T202、G302), qPCR(货号R202、Q204)等实验。

产品组成:

组分	TQ402-02 (100次)
Lysis/Binding Buffer (裂解/结合缓冲液)	2×30 mL
Wash Buffer (清洗液, 已加乙醇)	2×60 mL
Elution Buffer (洗脱液)	10 mL
4minSpin™ RNA Columns & collection tubes(RNA吸附柱和收集管套件)	100套
RNase Free Tubes(1.5 mL无RNA酶离心管, 用于裂解样本和最后一步洗脱使用)	200个

注意事项:

尽量使用新鲜样本, 以保证RNA不被降解。

本说明书推荐的最适细胞量能满足大部分样本, 对于核酸含量过高或者过低样本, 可酌情减少或者增加起始样本量。

提取过程在室温进行, 试剂不可冷冻(如有沉淀 37°C 加热溶解), 以免产生沉淀堵塞纯化柱, 最后得到的RNA要分装冷冻保存。

第一步的样本裂解很重要, 裂解后要清澈透亮, 如果有不溶物可能会堵塞纯化柱。

产品使用:**1. 细胞RNA提取**

1.1 裂解细胞: 不同培养器皿对应的细胞量如下图(10^6 - 10^7 之间), 其他类型器皿可按照面积估算细胞量:

培养器皿	单孔面积/cm ²	细胞量
12孔培养板	4.5	1×10^6
6孔培养板	9.6	2.5×10^6
3.5 cm 培养皿	8	2×10^6
6 cm 培养皿	21	5.2×10^6
25 cm ² 培养瓶	25	5×10^6

吸净培养器皿里的培养液, 按照 10^6 - 10^7 细胞量加入500 μl Lysis/Binding Buffer, 用移液器反复吹打(或者使用细胞刮刀刮下细胞), 直至细胞全部脱落, 转移到1.5ml RNase Free Tubes, 充分颠倒混匀10次, 静置**1分钟**。

- 此步骤也可用胰酶消化贴壁细胞8000rpm离心2分钟后, 加入500 μl Lysis/Binding Buffer后续操作如上。
- 悬浮细胞收集8000rpm离心2分钟后, 用100 μl PBS重悬后(重悬很重要), 加入500 μl Lysis/Binding Buffer后续操作如上
- 如果样本不立即提取需要保存, 可以在上述细胞加500 μl Lysis/Binding Buffer充分裂解之后(细胞内也有RNase酶, 所以要裂解充分, 利于Lysis/Binding Buffer抑制RNase酶), 保存到 -80°C 冰箱

1.2 RNA结合: 将上一步裂解产物转移到RNA Columns & collection tubes, 12000rpm室温离心**1分钟**, 弃滤液。

1.3 RNA清洗: 加入500 μl Wash Buffer(重要, 不要增加体积), 12000rpm室温离心**1分钟**, 弃滤液。

1.4 甩干乙醇: 不加液体, 空离, 12000rpm室温离心**1分钟**。

1.5 RNA洗脱: 将上面的RNA Columns小心转移(重要, 不要碰到管内液体)到新的1.5ml RNase Free Tubes, 在膜中央(重要)加入25-50 μl Elution Buffer, 室温静置**1分钟**, 12000rpm室温离心**1分钟**, 得到的RNA立即使用本公司逆转录试剂盒(货号: R202)进行逆转录实验, 或者小份分装RNA保存在 -80°C 冰箱。

2. 细胞RNA提取流程:



100ul PBS重悬细胞后或者直接加
500ul Lysis/Binding Buffer
颠倒10次或者移液器吹打至澄清
静置**1min**



上一步裂解物倒入RNA 吸附柱
12000rpm室温离心**1min**
倒掉离心后的液体



加500ul wash buffer
12000rpm室温离心**1min**



为了甩干乙醇
12000rpm室温空离心**1min**



加25-50ul RNA洗脱液
室温静置**1min**
12000rpm室温离心**1min**



基因定量实验流程:

从细胞样本提取RNA,
4步离心, 6分钟等待时间



4minSpin™ RNA Purification Kit
货号: TQ402



2 min 去除基因组



HyperScript III RT SuperMix for qPCR with gDNA Remover
货号: R202



15分钟逆转录成cDNA



30秒预变性;
10秒变性,
30秒退火延伸,



2 x S6 Universal SYBR qPCR Mix
货号: Q204