

HyperPure™ RNA Isolation Kit**货号:** TQ301**保存条件:** 室温储存**产品介绍:**

本品可快速从 10^6 - 10^7 培养细胞或者从10mg-20mg动物组织提取总RNA(miRNA除外, 脂肪组织除外), 本品采用特殊配方无需酚氯仿抽提, 试剂盒中HyperPure gDNA-Filter Columns能有效地去除杂质和gDNA, HyperPure RNA Columns能高效地结合RNA, 搭配优化后的Buffer, 得到的总RNA纯度高。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	TQ301-01 (50次)
Lysis Buffer (裂解缓冲液)	30 mL
Wash Buffer A (清洗液)	40 mL
Wash Buffer B* (清洗液, 首次使用要加无水乙醇)	20 mL
Elution Water* (洗脱液)	10 mL
HyperPure gDNA-Filter Columns & collection tubes (DNA吸附柱和收集管套件)	50套
HyperPure RNA Columns & collection tubes (RNA吸附柱和收集管套件)	50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)	100个

Wash Buffer B*首次使用加80ml无水乙醇, Elution Water*推荐存放在 4°C 或者 -20°C 。

注意事项:

Wash Buffer B首次使用加80ml无水乙醇。

尽量使用新鲜样本, 以保证RNA不被降解。**样本不要使用过多过大, 否则可能堵塞Columns。**

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。

产品使用:

1.1 裂解细胞: 不同培养器皿对应的细胞量如下图, 其他类型器皿按照面积计算估计细胞量:

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 Buffer, 用移液器反复吹打(或者细胞刮刀刮下细胞), 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**5分钟**。

a. 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 Buffer后续操作如上。

b. 悬浮细胞收集8000rpm离心2分钟后, 加入500 μl Lysis Buffer后续操作如上。

c. 如果样本不立即提取需要保存, 可以在上述细胞加500 μl Lysis Buffer充分裂解之后(细胞内也有RNase酶, 所以要裂解充分, 利于Lysis Buffer抑制RNase酶), 保存到 -80°C 冰箱

1.2 裂解组织:

可选一: 液氮研磨

将10mg-20mg(10mg组织约等于米粒大小)样本转移至液氮预冷的研钵中, 用研磨杵研磨样本(研磨中不断补加液氮), 直至研磨成粉末状, 无明显颗粒。粉末转移到1.5ml RNase Free Tubes加入500µl Lysis Buffer, 高速涡旋30秒, 室温静置5分钟, 12000rpm室温离心5分钟, 保留上清。

可选二: 研磨棒或者组织研磨仪

将每10mg-20mg(10mg组织约等于米粒大小)加500µl Lysis Buffer, 用研磨棒或组织研磨仪研磨(注意温度), 直至样本充分裂解, 高速涡旋30秒, 室温静置5分钟, 12000rpm室温离心5分钟, 保留上清。

2 去除基因组/杂质: 将上一步上清转移到HyperPure gDNA-Filter Columns & collection tubes, 12000rpm室温离心2分钟, 丢弃柱子, 保留液体(注意)。

3 加乙醇: 加上一步液体0.5倍体积无水乙醇(约250ul)到上一步液体中, 用移液器吹打5次混匀。

4 RNA结合: 将上一步混合液(若体积大于750ul, 分几次重复此步骤)转移到HyperPure RNA Columns & collection tubes, 12000rpm室温离心30秒, 弃滤液, 装回柱子到收集管中。

5.1 清洗: 加入Wash Buffer A 500ul到柱子上, 12000rpm室温离心30秒, 弃滤液, 装回柱子到收集管中。

5.2 清洗: 加入Wash Buffer B 500ul到柱子上, 12000rpm室温离心30秒, 弃滤液, 装回柱子到收集管中。

5.3 清洗: 加入Wash Buffer B 500ul到柱子上, 12000rpm室温离心30秒, 弃滤液, 装回柱子到收集管中。

6 甩干乙醇: 不加液体, 空离, 12000rpm室温离心2分钟。

7 RNA洗脱: 将上面的HyperPure 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50ul-100ul Elution Water, 室温静置3分钟, 12000rpm室温离心1分钟, 得到的RNA立即使用货号#R202/R201#逆转录, 或者小份分装RNA保存在负80度冰箱。

基因定量实验流程:

HyperPure™ RNA Isolation Kit
货号: TQ301



包含gDNA去除柱, RNA更纯净
无需酚氯仿有毒试剂



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



2 min 去除基因组(可选)



15分钟逆转录成cDNA

2 x S6 Universal SYBR qPCR Mix
货号: Q204



30秒预变性;
循环内10秒变性, 30秒退火延伸