

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	TQ402-01 (50次)	TQ402-02 (100次)
Lysis/Binding Buffer（裂解/结合缓冲液）	30 mL	2×30 mL
Wash Buffer（清洗液,已加乙醇）	60 mL	2×60 mL
Elution Buffer（洗脱液）	5 mL	10 mL
4minSpin™ RNA Columns & collection tubes(RNA吸附柱和收集管套件)	50套	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)	100个	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℃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500μl 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500μl Lysis/Binding Buffer后续操作如上。
- 悬浮细胞收集8000rpm离心2分钟后，用100ul PBS重悬后（重悬很重要），加入500μl 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500μl 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℃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500ul 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25-50ul 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保存在负80度冰箱。

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