

Magen快速总RNA提取-细胞 R4012-02 简单方案

第一部分:样品的裂解

A. 培养细胞 ($<1 \times 10^6$)

1. 计算细胞数量, 加入RTL Lysis Buffer/ β -ME 至细胞样品中。打散细胞。

离心收集的细胞: 弹打或涡旋使细胞松散, 然后加入适量的RTL Lysis Buffer/ β -ME 涡旋或吸打混匀。

$\leq 1 \times 10^6$ 细胞: 加入350 μ l RTL Lysis Buffer/ β -ME

$\leq 1 \times 10^5$ 细胞: 加入100 μ l RTL Lysis Buffer/ β -ME

贴壁细胞的直接裂解: 彻底吸弃培养液后, 往培养瓶/皿中加入适量的RTL Lysis Buffer。用枪吹打使细胞从壁上脱落, 收集裂解液, 并转移至离心管中。

6 cm 直径的培养皿: 加入350 μ l RTL Lysis Buffer/ β -ME

处理 $\leq 1 \times 10^5$ 细胞的多孔板: 加入100 μ l RTL Lysis Buffer/ β -ME

2. 匀浆(任选一种方案)

用一次性的注射器抽打裂解液5次匀浆细胞;

处理 <1000 个细胞时, 只需高速涡旋1分钟;

第二部分: 过柱纯化

3. 加入等倍体积 RNA Binding Buffer 至匀裂液或上清液中, 用移液枪吸打 3~5 次或涡旋混匀 15 秒。

4. 把 HiPure RNA Mini Column I 装在 2ml 收集管中。转移全部的混合液(包括沉淀)至柱子中。8,000 \times g 离心 30 秒。

5. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer RW1 至柱子上, 静置 3 分钟。8,000 \times g 离心 30 秒。

6. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱中, 8,000 \times g 离心 30 秒。

7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱中, 8,000 \times g 离心 30 秒。

8. 倒弃流出液, 把柱子装回收集管。10,000 \times g 离心空柱 3 分钟甩干柱子。

9. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 15~30 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。静置 1 分钟。10,000 \times g 离心 1 分钟。

10. 丢去 RNA 柱, 把 RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。