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 x 106）

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。

≤1 x 106 细胞：加入350μl RTL Lysis Buffer/β-ME

≤1 x 105 细胞：加入100μl 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350μl RTL Lysis Buffer/β-ME

处理≤1x105细胞的多孔板：加入100μl 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。8,000xg离心30秒。

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

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

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

8. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。10,000×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15~30μl RNase Free Water至柱子膜中央。静置1分钟。10,000×g离心1分钟。

10. 丢去RNA柱，把RNA保存于-80℃。