

酵母 RNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Yeast RNA Kit

货号	R6870-00	R6870-01	R6870-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] RNA Mini Column	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	15 个	150 个	600 个
Glass Beads	250 mg	2.5 g	10 g
SE Buffer	15 mL	120 mL	2 x 210 mL
YRL Buffer	5 mL	20 mL	80 mL
RNA Wash Buffer I	5 mL	50 mL	210 mL
RNA Wash Buffer II	2 mL	12 mL	50 mL
Lyticase	500 units	5000 units	4 x 5000 units
Nuclease-free Water	5 mL	10 mL	40 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. Lyticase 长期保存需要放置-20℃；
3. 当贮存温度较低时，有些组分如 YRL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37℃ 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用。
4. 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
R6870-00	8 mL
R6870-01	48 mL
R6870-02	200 mL

2. 按照下表加入 SE Buffer 配制 SE Buffer/Lyticase Mixture。溶解后放置-20℃保存。

货号	SE Buffer 加入量
R6870-00	把 Lyticase (500 units) 溶解到 10mL SE Buffer 中
R6870-01	把 Lyticase (5000 units) 溶解到 100mL SE Buffer 中
R6870-02	把 Lyticase (5000 units) 溶解到 100mL SE Buffer 中

3. (可选) 每毫升 YRL Buffer 需加入 20 μ L 2-巯基乙醇，该混合液可室温贮存一个月。

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型低温离心机
- ✓ 离心速度可达 5,000xg 的吊篮式离心机
- ✓ 温度可达 30℃的水浴装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 无酶吸头及 1.5mL 离心管
- ✓ 70%乙醇 (由无酶水配置)、无水乙醇、2-巯基乙醇
- ✓ (可选) 真空抽滤装置、DNase I 消化套装

★ 提取步骤 —— 离心方案

1. 4℃ 1,000 xg 离心 5min 收集 $\leq 2 \times 10^7$ 个新鲜培养的酵母细胞，弃培养基。
注意：对于在 YPD 培养基中培养的酿酒酵母，OD₆₀₀=1.0 时，相当于每 1mL 培养菌液中含 2×10^7 个酵母细胞。

2. 加 2 mL SE Buffer/Lyticase Mixture, 重悬酵母沉淀, 30°C 孵育 30min, 每隔 10min 颠倒一次。
3. 室温 400 xg 离心 5min 沉淀酵母原生质体。小心倒弃上清, 上清不完全去除会影响原生质体的裂解。
4. 加入 350 μ L YRL Buffer/2-巯基乙醇和 50 mg Glass Beads。高速涡旋 5 min 裂解匀浆样品。如果有珠磨仪, 可以使用珠磨仪以最高的速度裂解细胞直至细胞完全裂解。

注意: YRL Buffer 在使用前需要按照第 2 页“实验前准备”加入 2-巯基乙醇。

5. 室温 13,000xg 离心 3min, 转移上清液到新的离心管中。
6. 加入等体积的 70%乙醇, 涡旋混匀。加入乙醇后可能会形成白色的絮状沉淀, 这不会影响提取, 不需要通过离心去除沉淀, 过柱前尽量打散。
7. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中, 转移第 6 步得到的混合液到结合柱中 (包含所形成的沉淀), 室温 10,000xg 离心 30 s, 弃滤液;

可选 DNase I 消化步骤 (需另购 DNase I Set 货号 E1091)

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解, 请参考第 5 页“DNase I 消化步骤”。如无需进行 DNA 消解, 请接着按第 8 步操作;

8. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入收集管中, 加入 700 μ L RNA Wash Buffer I 至结合柱中, 10,000xg 离心 30s, 弃滤液及收集管;
 9. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
- # 注意:** RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
10. 重复步骤 9;
 11. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
 12. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-50 μ L DEPC Water 至结合柱中, 室温放置 2 min, 10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA, 产物放置 -70°C 保存。

注意: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量:

- 使用前将 DEPC Water 70°C 预热;
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 DEPC Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱出的 DEPC Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)

★ 提取步骤 —— 抽滤方案

1. 按照第 2-3 页 “离心方案” 的步骤 1-6 准备好裂解结合液。
2. 按照说明书将 HiBind® RNA Mini Column 与真空抽滤装置连接。转移裂解结合液到 HiBind® RNA Mini Column 中, 打开真空泵, 使所有混合液通过柱子, 关闭真空泵。

注意: 如果溶液无法完全通过柱子, 需将柱子转移套入 2 mL 收集管中, 按照离心方案步骤 7 进行。

可选 DNase I 消化步骤 (需另购 DNase I Set 货号 E1091)

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解, 请参考第 5 页 “DNase I 消化步骤”。如无需进行 DNA 消解, 请接着按第 3 步操作;

3. 加入 700 μ L RNA Wash Buffer I 至结合柱中, 打开真空泵, 使所有混合液通过柱子, 关闭真空泵;
 4. 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II 至结合柱中, 打开真空泵, 使所有混合液通过柱子, 关闭真空泵;
- # 注意:** RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
5. 重复步骤 4;
 6. 将 HiBind® RNA Mini Column 从真空抽滤装置中取下, 套回 2mL 收集管中, 13,000xg 离心空甩 2min.
 7. 将 HiBind® RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-50 μ L DEPC Water 至结合柱中, 室温放置 2 min, 10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA,

产物放置-70°C 保存。

注意：以下操作可能帮助提高 RNA 产量：

- 使用前将 DEPC Water 70°C预热；
- 室温静置 5min；
- 增加洗脱液的体积；
- 用新的 DEPC Water 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
- 将第一次洗脱出的 DEPC Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ DNase I 消化步骤（可选步骤）

用户自备试剂：DNase I Digestion Set (货号 E1091)

按照上述离心方案完成 1-7 步或抽滤方案完成 1-2 步后，请按以下步骤操作：

1. 每一个 HiBind® RNA Mini Column，按照按下表配置 DNase I 溶液：

溶液名称	每份配量
Digestion Buffer	73.5μL
RNase-Free DNase I	1.5μL
总量	75μL

重要提示：

- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性，切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀；
 - ✓ DNase I 混合液需现配现用；
 - ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液，其他消化液与膜上消化操作不配套，可能会降低 RNA 产量及纯度；
 - ✓ 全部操作均在室温下进行，请谨慎且尽量快速地操作。
2. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入 2ml 收集管中，往 HiBind® RNA Mini Column 加入 300μL RNA Wash Buffer I，10,000×g 室温离心 1min，弃掉滤液；

3. 将配置好的 75 μ L 的 DNase I 溶液, 转移至 HiBind[®] RNA Mini Column 膜的正中央, 切勿打到结合柱壁;
 4. 室温静置 15min;
 5. 加入 400 μ L RNA Wash Buffer I 至 HiBind[®] RNA Mini Column 中, 室温静置 5min, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
 6. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
- # 注意:** RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
7. 重复步骤 6;
 8. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。
 9. 将 HiBind[®] RNA Mini Column 套入新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-50 μ L DEPC Water 至结合柱中, 室温放置 2 min, 10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA, 产物放置-70 $^{\circ}$ C 保存。

注意: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量:

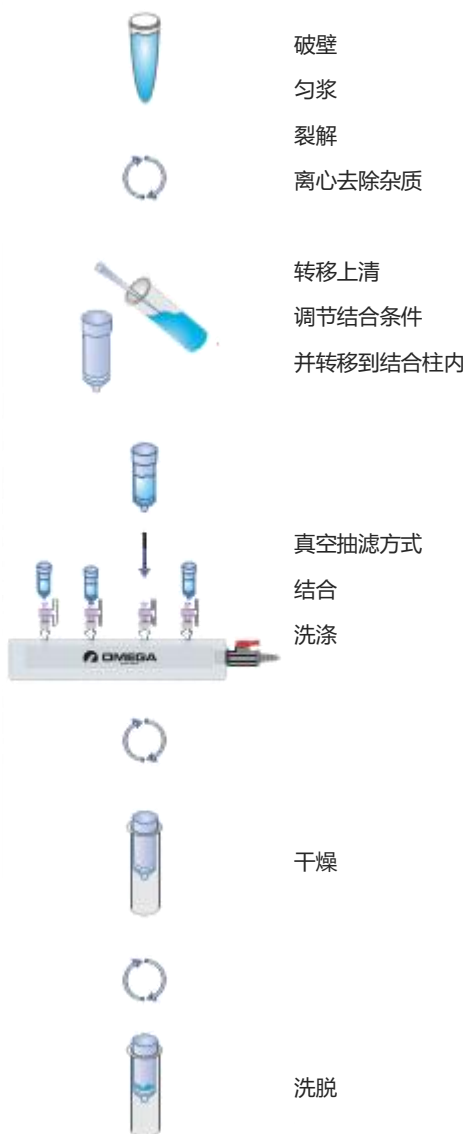
- 使用前将 DEPC Water 70 $^{\circ}$ C 预热;
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 DEPC Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱出的 DEPC Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程



★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：**omegabiotek.com.cn**



如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。