

Yeast RNA Extraction Mini Kit

酵母 RNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从酵母细胞样品中提取 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，在高盐条件下特异性结合核酸，并有效去除杂蛋白等细胞中的杂质。操作简便，在 30 分钟内即可得到高纯度的酵母 RNA。采用该产品提取得到的产物可直接用于 RT-PCR 等下游实验。

产品组份

产品编号	RNY487-01 (10 Preps)	RNY487-02 (50 Preps)	RNY487-03 (250 Preps)
DNA Extraction Mini Columns I	10	50	250
RNA Extraction Mini Columns	10	50	250
Glass Beads II	4 g	13 g	60 g
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer PL	7 ml	40 ml	200 ml
Buffer W1R	8 ml	40 ml	200 ml
Buffer W2R	3 ml	15 ml	2×40 ml
RNase Free Water	2 ml	10 ml	50 ml

保存条件

本产品可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer PL 可能会有沉淀形成，需 37℃ 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer W2R 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 转移 2ml 酵母培养液至 2ml 离心管，13,000 ×g 离心 1 min，吸弃培养液（菌液较多时可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。
2. 加入 700μl Buffer PL 和 0.2g Glass Beads II 至样品中，最高速度涡旋 5 分钟，进行破壁。
3. 室温静置 5 分钟，13,000×g 离心 5 分钟。
4. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。把上清液转移至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。弃去柱子，保留滤液。
注意：RNA 存在于滤液中，不可倒弃滤液。
5. 向滤液中加入 0.5 倍无水乙醇，用移液枪吹打混匀数次。
6. 把 RNA Extraction Mini Columns 装在 2ml 收集管中。把混合液转移 750μl 至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子。13,000 x g 离心 20 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600μl Buffer W1R 至柱子上。13,000 x g 离心 10 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600μl Buffer W2R 至柱子中，13,000 x g 离心 10 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600μl Buffer W2R 至柱子中，13,000 x g 离心 10 秒。

11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 × g 离心 2 分钟。

该步骤去除 RNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50μl 时，该步骤结束后应打开 RNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100μl RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟，13,000 × g 离心 1 分钟。

柱子最小的洗脱体积是 30μl，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 × g 离心 1 分钟。

13. 弃去柱子，把 RNA 保存于-20°C。

常见问题

1. RNA 产量低

- 洗脱不充分，延长洗脱时间并增加洗脱次数提高洗脱效率。
- 破壁步骤必须涡旋足够长时间以提高产量。
- 样品用量过多导致裂解不充分，减少样品用量。

2. 下游结果不理想

- **乙醇残留**：对于敏感应用，必须晾干 10 分钟后进行洗脱。
- **样品量过多**：超量样品导致纯度下降，减少样品用量。

3. 柱子堵塞

- 转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，导致 **RNA 纯度下降**。