



植物中の RNA 抽出 Maxi キット

Plant Total RNA Extraction Maxi Kit

目次

基本データ	3
キットの内容	3
重要事項	4
操作	4

* 本製品は研究用です *



本製品は、植物組織や細胞からトータル RNA を迅速に抽出することができます。植物組織は液体窒素を用いて粉末状にし、フィルターカラムを用いて細胞断片を除去します。カオトロピック塩を含む binding buffer を加えることで、サンプル溶解物中のトータル RNA はカラムのガラス繊維基質に結合します。DNase を用いたオプション操作で DNA 断片を除去し、その他の夾雑物はエタノールを含む Wash buffer で洗い流します。最終的に、RNase-Free water で RNA を溶出します。所要時間は約 60 分です。精製した RNA は RT、RT-PCR、real-time PCR、ノーザンブロットティングなどのアプリケーションへ使用できます。200bp-1kb の ssRNA や dsRNA を効率よく抽出することができます。

品質管理

本キットは、ロットベースで品質管理を行っています。25mg の葉から抽出したトータル RNA は分光光度計で抽出量を測定し、アガロースゲル泳動で確認しています。

基本データ

サンプル量	所要時間	結合量	収量	溶出量
500mg (最大 1g) 植物組織 5 × 10 ⁷ 植物細胞	45-60 分程度	1,000μ g	50-300μ g 程度	500μ l

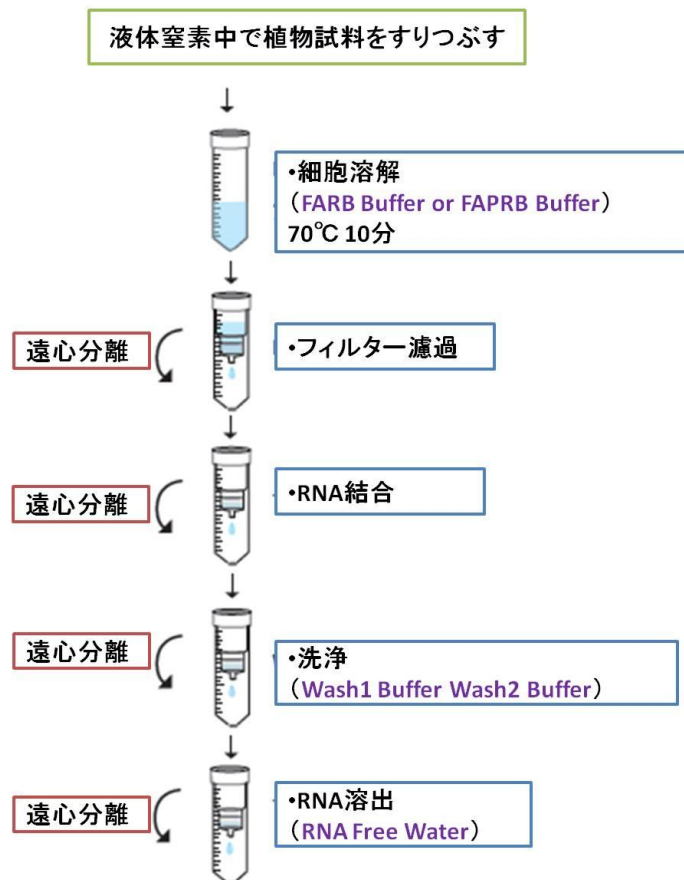
キットの内容

	FAPRK 002 (10 preps)	FAPRK 001-1 (24 preps)
FARB Buffer	60ml	150ml
FAPRB Buffer	60ml	150ml
Wash Buffer 1	45ml	120ml
Wash Buffer 2 (conc.)	12.5ml エタノール(96-100%)を 50ml 加えてください。	50ml エタノール(96-100%)を 200ml 加えてください。
RNase-free water	6ml	30ml
Filter Column	10 pcs	24 pcs
FARB Maxi column	10 pcs	24 pcs

🌈 重要事項

1. 操作に関連するものは、RNase フリーであることを確認してください。
2. 本製品の取扱時は白衣とゴム手袋を着用してください。
3. 使用前に、FARB Buffer 又は FAPRB Buffer を RNase フリーのチューブに取り、 β メルカプトエタノール(β -ME)を加えてください。(5ml の FARB Buffer 又は FAPRB Buffer に β -ME を 50 μ l 加えてください。)
4. Wash 2 buffer に必要量のエタノール(96-100%)を加えてください。
5. オプションの操作を行う場合は、RNase-free DNase 1 を reaction buffer (1M NaCl, 10mM MnCl₂, 20mM Tris-HCl, pH7.0, 25°C) で 0.5U/ μ l に調整してください(キットには含まれません)。

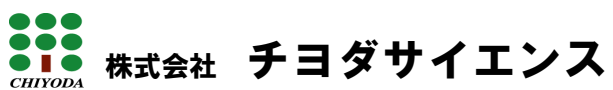
🌈 操作



1. 500mg(最大 1g)の植物サンプルを液体窒素で粉末化し、新しいチューブ(お客さまでご用意ください)に移します。
* 1g 以上のサンプルを処理した場合、収量が低くなる可能性があります。
2. 5ml の FARB Buffer (β -ME を加えたもの)を加え、ボルテックスでよく混和します。粘性の高い二次代謝産物を含むサンプル(トウモロコシの胚乳や糸状真菌の菌糸体)の場合は FAPRB Buffer(β -ME を加えたもの)を使用してください。
* サンプル中の全てのRNAを遊離するために、サンプルを完全に溶解させてください。サンプルに合わせ、適切な方法を用いてサンプルを溶解させてください。
3. 70°Cで10分間インキュベートしてください。インキュベート中3分ごとに、ボルテックスで混和してください。
4. Filter Column を 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ取り付け、サンプルを移します。
5. 4°C、4,500–6,000rpm で5分間遠心分離します。
6. 50ml チューブ中の上清を新しい 50ml チューブ(お客様でご用意ください)に移します。次のステップでサンプル量の同量のエタノールを加えるため、サンプル量を調整してください。
* ペレットを混入させないようにしてください。
7. サンプル量と同量の 70%エタノールを加え、パルスボルテックスで5秒間混和します。
* 例:4.5ml のサンプルに対して 4.5ml のエタノールを加えてください。
8. FARB Maxi Column を 50ml チューブ(お客様でご用意ください。)へ取り付け、エタノールを加えたサンプル溶液(沈殿物を含めてすべて)を加えます。4,500–6,000rpm で1分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Maxi Column は 50ml チューブへ戻します。
9. ゲノム DNA を除去するためのオプションステップ
(必要ない場合はステップ 10 へ進んでください。)
 - a) 2.5ml の Wash1 Buffer を FARB Maxi Column へ加え、4,500–6,000rpm で2分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Maxi Column を 50ml チューブへ戻します。
 - b) 800 μ l の RNase-free DNase1 (0.5U/ μ l :お客様で調整してください。)を FARB Maxi Column へ加え、15分間静置します。

- c) 2.5ml の Wash 1 Buffer を FARB Maxi Column へ加え、4,500–6,000rpm で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Maxi Column は 50ml チューブへ戻します。
- d) ステップ 11 へ進みます。
10. 5ml の Wash 1 buffer を FARB Maxi Column へ加え、4,500–6,000rpm で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Maxi Column は 50ml チューブへ戻します。
11. 5ml の Wash 2 buffer(事前にエタノールを加えてください)を FARB Maxi Column へ加え、4,500–6,000rpm で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Maxi Column は 50ml チューブに戻してください。
***この操作を 2 回繰り返してください。**
12. さらに 10 分間、4,500–6,000rpm で遠心分離し、FARB Maxi Column を乾燥させます。
*** 酵素反応を阻害する物質を取り除くために重要なステップです。**
13. FARB Maxi Column を 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ取り付けます。
14. 1ml の RNase-free ddH₂O を FARB Maxi Column 膜の中央にアプライし、5 分間静置します。
*** 効率よく DNA を溶出するために、Elution Buffer をカラム膜中央へ加え、完全に吸着させます。**
15. 4,500–6,000rpm で 5 分間遠心分離し、RNA を溶出します。
16. 精製した RNA は、-70°Cで保管してください。

日本総代理店



〒101-0032 東京都千代田区岩本町 2-13-11 TEL: 03(3864)7701 FAX: 03(3864)7752

E-mail: technical@chiyoda-s.jp

vol.1005

<http://www.chiyoda-s.jp>