



植物中の RNA 抽出 Mini キット

Plant Total RNA Extraction Mini 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。洗浄剤とカオトロピック塩を用いて細胞を溶解し、RNase を不活化します。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。

🌈 基本データ

サンプル量	100mg 植物組織 1 × 10 ⁷ 植物細胞
結合量	100μ g
収量	5-30μ g 程度
所要時間	30-60 分程度
溶出量	50μ l

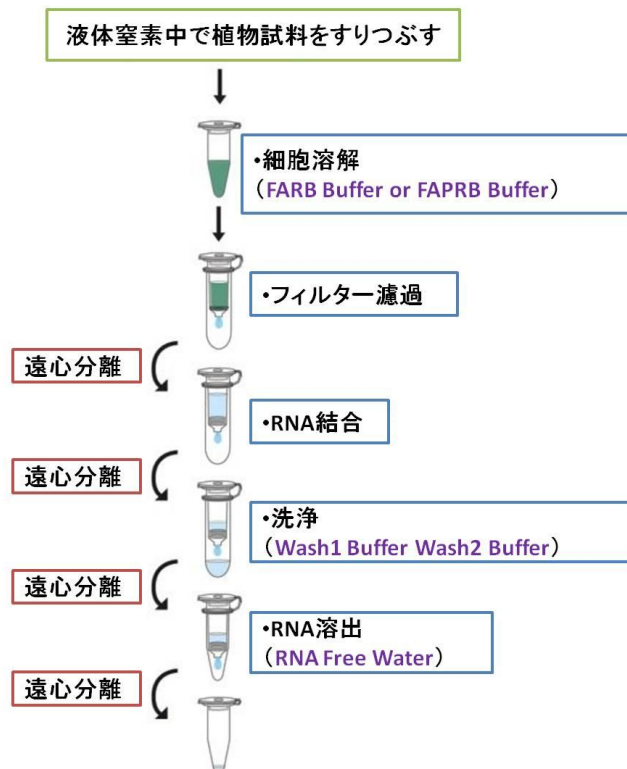
🌈 キットの内容

	FAPRK 001 (50 preps)	FAPRK 001-1 (100 preps)
FARB Buffer	30ml	60ml
FAPRB Buffer	30ml	60ml
Wash Buffer 1	30ml	60ml
Wash Buffer 2 (conc.)	15ml エタノール(96-100%)を 60ml 加えてください。	35ml エタノール(96-100%)を 140ml 加えてください。
RNase-free water	6ml	6ml
Filter column	50 pcs	100 pcs
FARB-Mini column	50 pcs	100 pcs
2ml collection tube	100 pcs	200 pcs
1.5ml Elution Tube	50 pcs	100 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。(1ml の FARB Buffer 又は FAPRB Buffer に β -ME を 10 μ l 加えてください。)
4. Wash buffer 2 に 60ml(FAPRK 001) 140ml (FAPRK 001-1)の RNase-free エタノール(96-100%)を加えてください。
5. 特に明記がない場合は、14,000 rpm または 10,000 \times g で遠心分離を行ってください。
6. 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)。

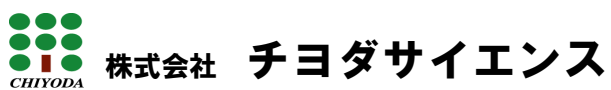
🌈 操作



1. 100mg 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。
* 収量が減少する為、100mg 以上の植物サンプルを使用しないでください。
2. 500 μ l の FARB Buffer (β -ME を加えたもの)を粉末化したサンプルに加え、ボルテックスでよく混和後、室温で 5 分間インキュベートします。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. Filter Column を Collection Tube へ取り付けます。サンプル溶液を加え、14,000rpm 又は 10,000 \times g で 1 分間遠心分離します。
4. Collection Tube 中の上清を新しいチューブ(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。
* ペレットが混入しないようにしてください。
5. サンプルに対して同量の 70%エタノールを加え、ボルテックスで混和します。
6. FARB Mini Column を Collection Tube へ取り付け、エタノールを含むサンプル溶液(沈殿物を含めてすべて)を FARB Mini Column へ加えます。14,000rpm 又は 10,000 \times g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
7. サンプルを全て処理するまでステップ 6 を繰り返します。
8. 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 9 へ進んでください。)
 - a) 250 μ l の Wash Buffer 1 を FARB Mini Column へ加え、14,000rpm 又は 10,000 \times g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
 - b) 80 μ l の RNase-free DNase1 (0.5U/ μ l: お客様で調整してください。)を FARB Mini Column へ加え、15 分間静置します。
 - c) 250 μ l の Wash Buffer 1 を FARB Mini Column へ加え、1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
 - d) ステップ 10 へ進みます。

9. 500 μ l の Wash buffer 1 を FARB Mini Column へ加えます。14,000rpm 又は 10,000 \times g で 5 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
10. 750 μ l の Wash buffer 2(エタノールを加えてください)を FARB Mini Column へ加えます。14,000rpm 又は 10,000 \times g で遠心分離し、ろ液を捨て、FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
11. ステップ 10 を繰り返し、750 μ l の Wash buffer 2(エタノールを加えてください)を FARB Mini Column へ加えます。14,000rpm 又は 10,000 \times g で遠心分離し、ろ液を捨てます。FARB Mini Column は Collection Tube へ戻してください。
12. さらに 3 分間、14,000rpm 又は 10,000 \times g で遠心分離し、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 Mini Column を 1.5ml Elution Tube へ取り付けます。
14. 50 μ l の RNase-free ddH₂O を FARB Mini Column 膜の中央にアプライし、1 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. 14,000rpm 又は 10,000 \times g で 2 分間遠心分離し、RNA を溶出します。
16. 精製した RNA は-70 $^{\circ}$ Cで保管します。

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.1101

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