

FavorPrep™ Plant Total RNA Maxi Kit

Cat: FAPRK 002 (10 回分)

本製品は研究用です

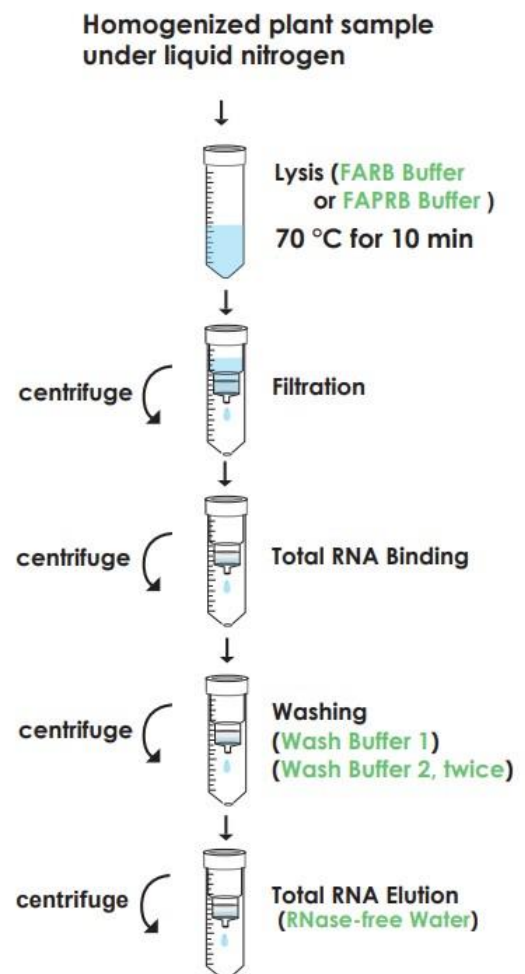
v 2306

📦 キットの内容

	FAPRK 000-Maxi (2 preps)	FAPRK 002 (10 preps)
FARB Buffer	12 ml	60 ml
FAPRB Buffer	12 ml	60 ml
Wash Buffer 1	10 ml	60 ml
Wash Buffer 2 (Concentrate)*	5 ml	12.5 ml
RNase-free Water	1 ml	6 ml
Filter Columns	2 pcs	10 pcs
FARB Maxi Columns	2 pcs	10 pcs
*添加する 96-100%エタノール量		
Wash Buffer 2 (Concentrate)	20 ml	50 ml

📄 基本情報

構成	シリカメンブレン法 (マキシスピナラム)
操作時間	45~60 分
サンプル量	植物組織: ≤1 g 植物細胞: ≤5~10 × 10 ⁷ cells
結合量	最大 2000 μg total RNA/column
収量	1 g 若葉: 50~300 μg
最小溶出量	500 μl
操作方法	遠心法 もしくは 吸引法



重要事項

1. 操作に関連するものは、RNase-free であることを確認してください。
2. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
3. FARB Buffer と FAPRB Buffer は使用前に RNase-free のチューブに取り、 β -メルカプトエタノールを加えてください。(50 ml の FARB Buffer または FAPRB Buffer に対して β -メルカプトエタノール 50 μ l 添加)
警告: β -メルカプトエタノールは人体に有害です。操作時はドラフトチャンバーを使用ください。
4. Wash Buffer 2 は開封時に RNase-free エタノール (96-100%) を加えてください。
5. 遠心分離は、最大速度 (4,500~6,000 rpm) で行ってください。
6. オプションの操作を行う場合は、RNase-free DNase I solution (1M NaCl, 10mM MnCl₂, 20mM Tris-HCl, pH 7.0 at 25°C)を準備し、最終的な DNase I の濃度が 0.5 U/ μ l に調整してください。

操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 500 mg (最大 1 g) の植物サンプルを液体窒素下で粉末化し、新しい 50 ml チューブ (お客様でご用意ください) に移します。
メモ: 収量が減少する為、1 g 以上の植物サンプルを使用しないでください。
2. 12.5 ml の FARB Buffer (β -メルカプトエタノール添加) を加え、激しくボルテックスします。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 -メルカプトエタノール添加) を使用してください。
* FARB, FAPRB Buffer (β -メルカプトエタノール添加) の調製については、重要事項 3 を参照ください。
メモ: 全ての RNA を遊離するために、サンプル毎に適切な装置を用いて試料を完全に破碎してください。
3. 70°C で 10 分間インキュベートします。インキュベート中は 3 分毎にボルテックスしてください。
4. Filter Column を 50 ml チューブ (お客様でご用意ください) へ取り付け、サンプル溶液を Filter Column へ移します。
5. 4°C、最大速度 (4,500~6,000 rpm) で 5 分間遠心分離します。
6. 上清を新しい 50 ml 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。
メモ: ペレットを混入させないようにしてください。
7. サンプルと同量の RNase-free エタノール (70%) を加え、5 秒間パルスボルテックスで十分に混和します。
例) 4.5 ml のサンプルに 4.5 ml の RNase-free エタノール (70%) を添加します。

8. FARB Maxi Column を 50 ml 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（沈殿物を含む）を移します。最大速度（4,500～6,000 rpm）で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨て FARB Maxi Column は 50 ml チューブへ戻します。

9. <オプション>ゲノム DNA を除去する場合

A) 2.5 ml の Wash Buffer 1 を FARB Maxi Column へ加えます。最大速度（4,500～6,000 rpm）で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨て FARB Maxi Column は 50 ml チューブへ戻します。

B) 800 μ l の RNase-free DNase I solution（0.5 U/ μ l, お客様で調整してください）を FARB Maxi Column の膜中央へ加え、ベンチトップで 15 分間静置します。

C) 2.5 ml の Wash Buffer 1 を FARB Maxi Column へ加えます。最大速度（4,500～6,000 rpm）で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨て FARB Maxi Column は 50 ml チューブに戻します。

D) ステップ 11 へ進みます。

10. 5 ml の Wash buffer 1 を FARB Maxi Column へ加えます。最大速度（4,500～6,000 rpm）で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨て FARB Maxi Column は 50 ml チューブへ戻します。

11. 5 ml の Wash buffer 2 を FARB Maxi Column へ加え、最大速度（4,500～6,000 rpm）で 2 分間遠心分離します。この作業を再度繰り返し、ろ液を捨て FARB Maxi Column は 50 ml チューブへ戻します。

メモ: Wash Buffer 2 に RNase-free エタノール（96-100%）が添加されていることを確認してください。

12. さらに最大速度（4,500～6,000 rpm）で 10 分間遠心分離し、FARB Maxi Column を乾燥させます。
重要ステップ! : この操作は酵素処理を阻害する物質を取り除くために重要です。

13. FARB Maxi Column を新しい 50 ml チューブ（お客様でご用意ください）へ取り付けます。

14. 1 ml の RNase-free Water を FARB Maxi Column の膜中央に加え、5 分間静置します。
重要ステップ! : 効率よく溶出させるため、RNase-free Water を完全に吸着させてください。

15. 最大速度（4,500～6,000 rpm）で 5 分間遠心分離し、RNA を溶出します。

16. 溶出した RNA は-70°Cで保管します。