

FavorPrep™ Plant Total RNA Extraction Maxi Kit

Cat. No. : FAPR1050 (2 回分) / FAPR1051 (10 回分)

本製品は研究用です

v 202505

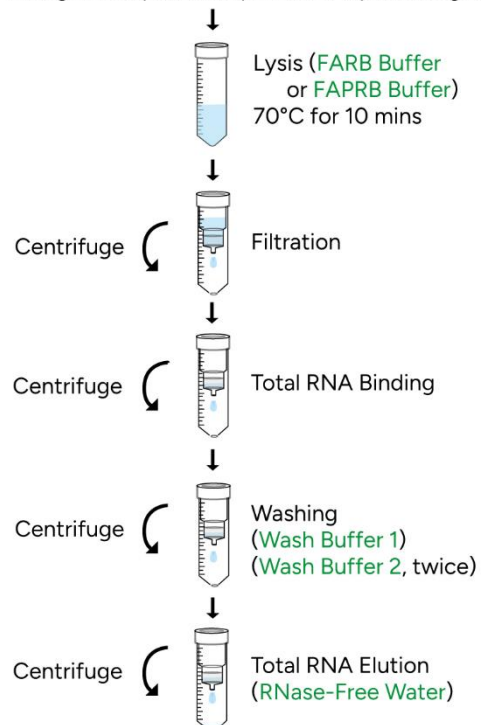
● キットの内容

	FAPR1050 (FAPRK 000-Maxi) (2 preps)	FAPR1051 (FAPRK 002) (10 preps)
FARB Buffer	12 ml	60 ml
FAPRB Buffer	12 ml	60 ml
Wash Buffer 1	30 ml	135 ml
Wash Buffer 2 (Concentrate) *	12 ml	54 ml
RNase-Free Water	1 ml	12 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	48 ml	216 ml

● 基本情報

構成	シリカメンブレン法 (マキシスピンカラム)
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	≤2 mg 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

Homogenized plant sample under liquid nitrogen



● 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. 作業を行う際は、ゴム手袋と白衣を着用してください。
3. FARB Buffer と FAPRB Buffer は使用前に RNase-free の容器に取り、 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 50 μ l の β -メルカプトエタノールを添加)
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、50 ml チューブ用スイングバケット式遠心機を使用し、最大速度(4,500~6,000 rpm)で行ってください。
6. オプション操作を行う場合は、各反応につき、1 ml の RNase-free DNase I solution (0.25 U/ μ l) を調製してください。

まず、1 M NaCl, 10 mM MnCl₂ または MgCl₂, 20 mM Tris-HCl (pH 7.0, 25°C) を含む 10 倍の DNase I reaction buffer を調製します。使用前にこのバッファを 1 倍に希釈し、DNase I の最終濃度が 0.25 U/ μ l になるように調製します。

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 500 mg の植物サンプル(最大 1 g)を液体窒素下で粉末化し、50 ml チューブ(非付属品)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. 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。
メモ) 全ての RNA を遊離させるため、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(非付属品)に取り付け、混合液を Filter Column に移します。
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(非付属品)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) 上清を移す際、ペレット等が混入しないようにしてください。
7. 上清に同量の RNase-free 70%エタノールを加え、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 の上清に 4.5 ml の RNase-free 70%エタノールを加えます。
8. FARB Maxi Column を 50 ml チューブ(非付属品)に取り付け、混合液(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 を 50 ml チューブに戻します。
9. <オプション>ゲノム DNA を除去する場合
 - A) 6 ml の Wash Buffer 1 を加え、最大速度(4,500~6,000 rpm)で 2 分間遠心分離します。ろ液を捨て、RNA Maxi Column を 50 ml チューブに戻します。
 - B) 12 ml の RNase-free 70%エタノールを加え、最大速度(4,500~6,000 rpm)で 2 分間遠心分離します。ろ液を捨て、RNA Maxi Column を 50 ml チューブに戻します。

- C) 1 ml の RNase-free DNase I solution (0.25 U/ μ l, 非付属品) を RNA Maxi Column のメンブレンの中央に加え、ベンチトップで 15 分間静置します。
 - D) 6 ml の Wash Buffer 1 を加え、最大速度 (4,500~6,000 rpm) で 2 分間遠心分離します。ろ液を捨て、RNA Maxi Column を 50 ml チューブに戻します。
 - E) ステップ 11 に進みます。
- 10. 12 ml の Wash buffer 1 を加え、最大速度 (4,500~6,000 rpm) で 2 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FARB Maxi Column は 50 ml チューブに戻します。
 - 11. 12 ml の Wash buffer 2 を加え、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 を 50 ml チューブに戻します。
メモ) Wash Buffer 2 にエタノールが添加されていることを確認してください。
 - 12. 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! この操作により、残留液がその後の酵素処理を阻害することを防ぎます。
 - 13. FARB Maxi Column を新しい 50 ml チューブ (非付属品) に取り付けます。
 - 14. 0.5~1 ml の RNase-Free Water を FARB Maxi Column のメンブレンの中央に加え、5 分間静置します。
重要! 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 を -70°C で保管します。