

FavorPrep™ Bacterial RNA Extraction HE Mini Kit

Cat. No. : FABR3030 (4 回分) / FABR3033 (50 回分) / FABR3034 (100 回分)

本製品は研究用です ver. 202602

● キットの内容

	FABR3030 (4 preps)	FABR3033 (50 preps)	FABR3034 (100 preps)
LR Solution	0.5 ml	6 ml	12 ml
FABR Buffer	1.5 ml × 2	25 ml	50 ml
Wash Buffer 1	1.5 ml × 2	30 ml	60 ml
RNase-Free Water	0.5 ml	6 ml	8 ml
Lysozyme Solution	55 μl × 2	650 μl × 2	650 μl × 4
HE Columns	4 pcs	50 pcs	50 pcs × 2
HE Collection Tubes	8 pcs	100 pcs	100 pcs × 2
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs


● 基本情報

構成	スピнкаラム (シリカメンブレン)
結合量	≤150 μg RNA/column
所要時間	<30 分
サンプル量	細菌細胞 ≤1 × 10 ⁹ 個
収量	≤75 μg
溶出量	30 μl



Centrifuge 5,000 xg, 3 mins

- Centrifuge to pellet the bacterial sample.
- Discard the supernatant.




- Add 75 μl LR Solution and 25 μl Lysozyme Solution to the sample pellet.
- Incubation at 37°C for 10 mins.
- Add 400 μl β-ME-FABR mixture.
- Vortex for 5 mins.
- Add 500 μl RNase-free 70% ethanol.

HE Column



Centrifuge 18,000 xg, 1 min

- Transfer the mixture into the HE Column for RNA binding.



Centrifuge 18,000 xg, 1 min

- Add 500 μl Wash Buffer 1.



Centrifuge 18,000 xg, 2 mins

- Add 500 μl ethanol (96–100%) and dry the column membrane.



Centrifuge 18,000 xg, 2 mins

- Add 30 μl RNase-Free Water.
- Stand the column for 5 mins.
- Obtain purified RNA.

● **重要事項**

1. キットの構成は Lysozyme Solution を除き、室温 (15~25°C) で保管してください。
2. Lysozyme Solution は受け取り次第すぐに -20°C で保管してください。
3. 用意する試薬: β -メルカプトエタノール (β -ME)、RNase-Free エタノール (70% および 96~100%)、DNase I (オプション)
4. <オプション>
RNA を長期保存する場合、取扱説明書に従いバクテリア細胞を FavorPrep™ NApreserve Reagent (型番 FNPR1084) に浸してください。
5. <オプション>
FavorPrep™ DNase I Solution (型番 FADI2093) の取扱説明書に従い、最終濃度が 0.25 U/ μ l になるよう DNase I 溶液を調製してください。
6. 新鮮な β -ME-FABR 溶液を使用するため、RNA 抽出の前にサンプル毎に 4 μ l の β -ME と 400 μ l の FABR Buffer を混合してください。
7. インキュベーションステップで使用するため、ウォーターバスもしくはドライバスを 37°C に設定してください。
8. 注意: β -ME は人体に有害です。 β -ME を扱う作業は必ずドラフト内で実施してください

● **操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。**

1. 細菌細胞 (最大 1×10^9 個) を 1.5 ml 遠心チューブ (非付属品) に移します。
2. $5,000 \times g$ で 3 分間遠心分離し、沈殿させます。上清を捨てます。
3. 75 μ l の LR Solution と 25 μ l の Lysozyme Solution を加え、ピペティングで沈殿を再懸濁させます。
4. 37°C で 10 分間インキュベートし、細胞壁を破壊します。
 - ・ グラム陰性菌の高純度 RNA が必要な場合、混合液を室温で 10 分間インキュベートしてください。
5. 400 μ l の β -ME-FABR 混合液を加えます。
6. 5 分間ボルテックスし、細菌細胞を完全に溶解させます。
7. 50 μ l の RNase-Free 70% エタノールを加え、ボルテックスで十分に混合します。
8. HE Column を HE Collection Tube に取り付け、混合液 (沈殿物を含む) を慎重に移します。 $18,000 \times g$ で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
9. <オプション> ゲノム DNA の除去
 - a. 250 μ l の Wash Buffer 1 を加え、 $18,000 \times g$ で 1 分間遠心分離します。ろ液を捨て、HE Column を HE Collection Tube に取り付けます。
 - b. 750 μ l の RNase-Free エタノール (70%) を加え、 $18,000 \times g$ で 1 分間遠心分離します。ろ液を捨て、HE Column を HE Collection Tube に取り付けます。
 - c. 60 μ l の RNase-Free DNase I 溶液 (0.25 U/ μ l、非付属品) をメンブレンの中央に加え、15 分間静置します。
 - d. 250 μ l の Wash Buffer 1 を加え、 $18,000 \times g$ で 1 分間遠心分離します。ろ液を捨て、HE Column を HE Collection Tube に取り付けます。
 - e. ステップ 11 に進みます。

10. 500 μ l の Wash Buffer 1 を加えます。18,000 \times g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
11. 500 μ l の RNase-Free エタノール(96~100%)を加え、2 分間遠心分離し、メンブレンを乾燥させます。ろ液と HE Collection Tube を捨てます。
重要！ カラムの先端がろ液に触れないように注意すること。触れた場合は、残留エタノールを完全に除去するため、再度遠心分離してください。
12. HE Column を Elution Tube に取り付けます。30 μ l の RNase-Free Water を直接メンブレン上加え、5 分間静置します。
重要！ 効率的な溶出のため、溶出液はメンブレンの中心に加え、完全に吸着させてください。
13. 18,000 \times g で 2 分間遠心分離し、RNA を溶出します。