

FavorPrep™ Tissue Total RNA Extraction HE Mini Kit

Cat. No. : FATR0030 (4 回分) / FATR0033 (50 回分) / FATR0034 (100 回分)

本製品は研究用です ver. 202512

● キットの内容

	FATR0030 (4 preps)	FATR0033 (50 preps)	FATR0034 (100 preps)
FARB Buffer	1.5 ml × 2	30 ml	60 ml
Wash Buffer 1	1.5 ml × 2	30 ml	60 ml
Wash Buffer 2 (Concentrate)*	1.5 ml	20 ml	35 ml
RNase-Free Water	0.5 ml	6 ml	8 ml
Filter Columns	4 pcs	50 pcs	50 pcs × 2
HE Columns	4 pcs	50 pcs	50 pcs × 2
HE Collection Tubes	4 pcs × 3	50 pcs × 3	100 pcs × 3
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Micropestles	4 pcs	50 pcs	50 pcs × 2
*添加するエタノール(96~100%)量			
Wash Buffer 2	6 ml	80 ml	140 ml

● 基本情報

構成	スピнкаラム (シリカメンブレン)
結合量	≤250 μg RNA/column
所要時間	<45 分
サンプル量	組織 ≤30 mg 培養細胞 ≤10 ¹ ~10 ⁷ 個
収量	≤75 μg
溶出量	30 μl

Animal tissues



- Cut the tissue (up to 30 mg) into a 1.5 ml tube (Not provided).
- Add 550 μl β-ME-FARB mixture.
- Homogenize using a homogenizer or Micropestle.
- Stand at room temperature for 5 mins.

Animal cells



Centrifuge
18,000 xg, 5 mins

- Centrifuge to pellet the cells up to 1 × 10⁷.
- Discard the supernatant.
- Add 550 μl β-ME-FARB mixture.
- Vortex for 1 min.

Centrifuge
18,000 xg, 3 mins



- Transfer entire mixture into Filter Column.
- Transfer all the supernatant of the filtrate into a new 1.5 ml tube.

HE Column



Centrifuge
18,000 xg, 3 mins

- Add 1x volume of RNase-Free 70% ethanol.
- Transfer up to 1000 μl of the sample mixture into the HE Column for RNA binding. (Repeat the step if the mixture volume exceeds 1000 μl.)

Centrifuge
18,000 xg, 1 min



Centrifuge
18,000 xg, 2 mins

- Add 500 μl Wash Buffer 1 and centrifuge.
- Add 750 μl Wash Buffer 2 (ethanol contained) and centrifuge
- Add 750 μl Wash Buffer 2 (ethanol contained) and dry the column membrane.

Centrifuge
18,000 xg, 2 mins



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

● 重要事項

1. すべての構成成分は室温(15~25°C)で保管してください。
2. 用意するもの: β -メルカプトエタノール(β -ME)、RNase-Free 70%エタノール、エタノール(96~100%)、20G 針付きシリンジ(オプション)、DNase I(オプション)
3. <オプション>
RNA を長期保存する場合、取扱説明書に従い動物組織を FavorPrep™ NApreserve Reagent(型番 FNPR1084)に浸してください。
4. <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 $0.25 \text{ U}/\mu\text{l}$ になるよう DNase I 溶液を調製してください。
5. 新鮮な β -ME-FARB 溶液を使用するため、RNA 抽出の前にサンプル毎に $5.5 \mu\text{l}$ の β -ME と $550 \mu\text{l}$ の FARB Buffer を混合してください。
6. 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。
7. Wash Buffer 2 に指示された量のエタノール(96~100%)を加えてよく混和し、室温で保管してください。

● サンプル前処理

<動物組織>

1. $550 \mu\text{l}$ の β -ME-FARB 混合液を組織サンプル(最大 30 mg)に加えます。
 - ・ RNA の豊富な組織や軟らかい臓器組織(例:肝臓、腎臓)の場合、カラムの過負荷を避けるため、サンプル量を $\leq 10\sim 15 \text{ mg}$ に調節してください。
2. ホモジナイザーまたは Micropestle を使用し、サンプルを均質化します。
 - ・ 残渣が残る場合、20G 針付きシリンジに 10 回通してください。
3. 室温で 5 分間インキュベートします。
 - ・ 溶解液がゲル状または糸状の場合、投入量を減らす、もしくは複数のチューブに分けてください。
4. 操作に進みます。

<培養細胞>

1. 培養細胞(最大 1×10^7 個)を 1.5 ml 遠心チューブ(非付属品)に移します。
2. $550 \mu\text{l}$ の β -ME-FARB 混合液を加え、1 分間激しくボルテックスして細胞を溶解します。
3. 操作に進みます。

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

注意:すべての遠心分離ステップは、室温、 $18,000 \times g$ で行ってください。

1. サンプル前処理の指示に従い、適切に処理されていることを確認します。
2. Filter Column を HE Collection Tube に取り付け、すべての混合液を移します。
3. 3 分間遠心分離します。上清を新しい 1.5 ml 遠心チューブ(非付属品)に慎重に移します。
 - ・ 上清を移す際、残渣や沈殿物をピペティングしないように注意してください。
4. 上清の体積を測定します。1 倍量の 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。

5. HE Column を HE Collection Tube に取り付け、混合液(沈殿物を含む)を移します。3 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。すべての混合液の処理が完了するまでこのステップを繰り返します。
6. <オプション>ゲノム DNA の除去
 - a. 250 μ l の Wash Buffer 1 を加え、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 70%エタノールを加え、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、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 8 に進みます。
7. 500 μ l の Wash Buffer 1 を加えます。1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
8. 750 μ l の Wash Buffer 2(エタノール添加)を加えます。1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
9. 750 μ l の Wash Buffer 2(エタノール添加)を加えます。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。
10. 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。
11. 2 分間遠心分離し、RNA を溶出します。