

Total RNA Extraction Kit Mini (Plant)



Cat. No. YRP50
50 ミニプレップ

RB Buffer: 30ml **
PRB Buffer: 30ml
R-W1 Buffer: 25ml
R-Wash Buffer (conc.): 25ml *
RNase-free Water: 10ml
RB Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 50 本
Filter Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 50 本

Cat. No. YRP100
100 ミニプレップ

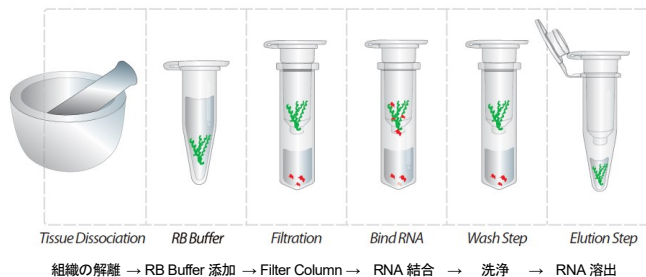
RB Buffer: 60ml **
PRB Buffer: 60ml
R-W1 Buffer: 50ml
R-Wash Buffer (conc.): 25ml *
RNase-free Water: 10ml
RB Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 100 本
Filter Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 100 本

対象サンプル：植物組織
サンプル量：50mg
収量：5~30µg
所要時間：60分以内
溶出量：50ml

* 初めにご使用になる前に、Wash Buffer に対し 4 倍量のエタノールを加えてください。
** RB Buffer を使用する前にβ-メルカプトエタノールを加える必要があります。RB Buffer 1ml あたりβ-メルカプトエタノール 10µl を加えてください。β-メルカプトエタノールを加えた後、RB Buffer は室温で1ヶ月まで保存できます。

追加でご用意いただくもの：液体窒素、エッペンチューブ、β-メルカプトエタノール、エタノール (96~100%)、DNase I (推奨)

1



プロトコール

組織の解離

- 新鮮な、または冷凍保存した植物組織を 50mg (最大 100mg まで) 切り取る。
- 液体窒素の中に入れた組織サンプルを粉末状になるまですりつぶす。(植物サンプルによっては、すりつぶす際に液体窒素が不要な場合があります。)
- サンプルをエッペンチューブに移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)

細胞の溶解

- RB Buffer (または PRB Buffer) 500µl と β-メルカプトエタノールを 5µl 加えてサンプルをすりつぶした後、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。
- 室温で 5 分間インキュベートする。
- Collection Tube 内にセットされた Filter Column に、サンプル溶液を入れる。
- 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 2 分間かける。
- フィルターカラムを捨て、透明な排液を新しいエッペンチューブに移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)

RNA 結合

- Collection Tube 内にセットされた RB Column を準備する。
- 8 のサンプル溶液にサンプルの半分量のエタノール (96~100%) を加え、すぐに、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。(例えば、サンプル溶液 500µl に対してエタノール 250µl を加える。)
- エタノールで薄めた溶液を RB Column に加える。
- 遠心分離機にフルスピードで 2 分間かける。
- 排液を捨て、RB Column を Collection Tube 内に戻す。

3

Total RNA Extraction Kit Mini (Plant)

概要

Total RNA Extraction Kit Mini (Plant) は、植物組織や植物細胞から全 RNA を迅速かつ簡単に精製するために設計されています。

本製品では、まず、組織試料を液体窒素中ですりつぶした後、フィルターカラムを使用してデブリスを取り除きます。カオトロピック塩を含む結合バッファーの存在下で、溶液中の全 RNA は、スピニングカラム内のグラスファイバー充填材に結合します。また、DNase 処理を施すことにより、混入した DNA を取り除くことができます。最後に、RNase-free Water を加えることにより、精製された全 RNA が溶出されます。フェノール抽出やアルコール沈殿などの処理は必要ありません。60 分以内に一連のプロセスが完了します。

精製された RNA は cDNA 合成、RT-PCR、リアルタイム PCR、ノーザン・ブロットングなどの用途に使用できます。

品質管理

Total RNA Extraction Kit Mini (Plant) はロット毎に、若葉 25mg から全 RNA を単離する方法で、品質試験を行っています。

精製された全 RNA の収量および品質はアガロースゲル電気泳動により確認されています。

デュオ・バッファー・システム：二種類の緩衝液の使用について

植物種は代謝産物において極めて多様です。多量の多糖類、炭水化物、脂質、ポリフェノール、タンパク質が植物組織中に含まれていると考えられます。このような植物の特性を考慮して、本製品は、植物サンプルの種類に応じて最適な性能を実現するよう、二種類の緩衝液を使い分ける方式を採用しています。

RB Buffer :

標準プロトコールでは、植物サンプルを溶解するために RB Buffer を使用します。この RB Buffer を用いてほとんどの一般的な植物種から高純度の分解のない RNA を高い収率で抽出することができます。

PRB Buffer :

PRB Buffer も本製品に付属しています。PRB Buffer は多量の多糖類が含まれる植物サンプルに適しています。多くの植物種においては、どちらの緩衝液も同等の性能を示します。

参考文献 (1) Vogelstein, B., and Gillespie, D. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 615.

注意事項 (1) 本製品は研究用です。診断用・治療用にはご使用にならないようお願いいたします。また、Buffer は、刺激性があり有害な物質を含有しています。ご使用中は必ず、白衣、使い捨ての手袋、防護用眼鏡を着用して下さい。

2

Total RNA Extraction Kit Mini (Plant)

推奨ステップ：残留 DNA の分解 手順 A (ミニ・カラム)

- RB Column に R-W1 Buffer 200µl を加える。静かに蓋を閉め、スピニングカラム・メンブレンを洗うため、フルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 15 秒間、遠心する。排液を捨てる。
- 続けて 2a または 2b の処理を行う。
 - 10 µl の DNase I (RBC Cat No. DN050) 保存溶液 (DN050 のマニュアル参照) を RDD バッファー 70 µl に加える。RDD バッファーは、RNase-Free DNase I Set (DN050) に添付されています。
注意：DNase I は、物理的な変性に特別弱い酵素です。混合はボルテックスではなく、チューブの反転により行ってください。
 - 20 Unit の DNase I 保存溶液を 80 µl の DNase 反応バッファー (1M NaCl, 20mM Tris-HCl, 10mM MnCl₂, pH7.0 at 25°C) に加えてください。
- DNase I 混合溶液 (80 µl) を直接、RB column メンブレンに加え、20-30°C で 15 分間インキュベート。
注意：DNase I 混合溶液が、直接、RB column メンブレンにアプライされるように注意してください。溶液がチューブの壁やスピニングカラムの O リングに残っていると、DNase の消化が不完全になる可能性があります。
- RB Column に R-W1 Buffer 200µl を加える。静かに蓋を閉め、フルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 15 秒間、遠心する。排液を捨てる。

洗浄

- RB Column に R-W1 Buffer 400µl を加え、遠心分離機にフルスピードで 1 分間かける。
- 排液を捨て、RB Column を Collection Tube 内に戻す。
- RB Column に (エタノールで薄めた) R-Wash Buffer 600µl を加え、遠心分離機にフルスピードで 1 分間かける。
- 排液を捨て、RB Column を Collection Tube 内に戻す。再度、遠心分離機にフルスピードで 3 分間かけて、カラム充填材を乾かす。

RNA 溶出

- 乾いた RB Column を新しいエッペンチューブ (RNase フリー) に移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)
- カラム充填材の中央に、RNase-free Water 50µl を加え入れ、RNase-free Water が充填材に完全に吸収されるまで 3 分間、チューブを立てて置く。
- 遠心分離機にフルスピードで 1 分間かけて、精製された RNA を溶出させる。

4

製品の取扱い方法についてのお問合せは、以下の弊社窓口まで
ご相談ください。

RBC Bioscience 社製品 日本総代理店
有限会社 サイトローブ
マーケティング営業部

〒113-0031 東京都文京区根津 2-4-2-1 階
Tel:03-5842-1749 Fax:03-5842-1926
E-mail:rbc@scitrove.co.jp