

製品コード : MRK010

研究用 (Research Use Only)

RNA Preparation Kit (100 回分)
Version 3.0

株式会社メタボスクリーン

本製品をご使用になる前に、この取扱説明書をよくお読みください。
この取扱説明書は、必要な時にすぐに取り出して読めるよう大切に保管してください。

1. 概要

1-1. 用途

このキットは、血清や体液などの液状の生体サンプルから RNA を抽出・精製するように設計されています。精製された RNA は、RT-PCR 分析に直接使用することができます。

1-2. 内容

ラベル	コード	機能	内容量
Binding Buffer	MRK010-01	サンプルを溶解して RNA を抽出します。	30 mL ×1
pH Optimizer	MRK010-02	カラムへの RNA 吸着条件を最適化します。	5 mL ×1
Wash Buffer 1	MRK010-03	カラムを洗浄します。	30 mL ×1
Wash Buffer 2	MRK010-04	カラムを洗浄します。	20 mL ×1
Elution Buffer	MRK010-05	カラムから RNA を溶出します。	5 mL ×1
Spin Columns	MRK010-06	サンプル中の RNA を吸着します。	50 本 ×2
Collection Tubes	MRK010-07	ろ液（フロースルー）を回収します。	50 本 ×2

※全てのバッファー類は沈殿（析出物）がない状態で使用しなければなりません。もし沈殿が見られた場合は室温（+15～25℃）または 37℃のウォーターバスを使用して沈殿が溶解するまで温めてください。

※Wash Buffer 1 と Wash Buffer 2 は濃縮状態です。使用する前に無水エタノールを添加しておく必要があります。

1-3. 保管および安定性

本キットに含まれるすべてのバッファーは+15～25℃で保管する必要があります。

適切に保管されている場合、すべてのバッファーは記載されている消費期限まで安定です。

1-4. キットのほかに必要な試薬・器具・消耗品

- ・無水エタノール (>99.5%)
- ・マイクロピペット (1,000 μ L、200 μ L) および適合するピペットチップ (Nuclease フリー)
- ・ボルテックスミキサー
- ・卓上遠心機 (10,000 x G 程度の遠心力がかけられるもの)
- ・1.5 mL マイクロチューブ (Nuclease フリー)
- ・適切な保護具 (作業衣、手袋、眼鏡)
- ・DNase I (必要に応じて)

1-5. 処理時間の目安

トータル時間 : 約 20 分間

作業時間 : 約 10 分間

2. 使い方

2-1. 始める前に

材料

50-100 μ L 程度の血清、プラズマ、尿、唾液などの液体サンプル

【取り扱い上の注意】

- (1) Binding Buffer と Wash Buffer 1 にはそれぞれチオシアン酸グアニジン、塩酸グアニジンが含まれています。
- (2) Binding Buffer、pH Optimizer および Wash Buffer 1 が肌や眼、粘膜に触れた場合はただちに接触した部分を大量の水で洗ってください。こぼした場合は水で薄めてから拭き取ってください。
- (3) バッファー類の漏れや濃度の変化を避けるため、ボトルのふたは確実に閉めてください。
- (4) Binding Buffer と Wash Buffer 1 は次亜塩素酸ナトリウム（市販の漂白剤に含有）と混ぜないでください。有毒なガスが発生する恐れがあります。

【安全に関する情報】

- (1) すべてのサンプルは感染性のものとして取り扱ってください。
- (2) 実験を行う場所では飲食・喫煙しないでください。
- (3) 口で吸い上げるピペットでは秤量しないでください。
- (4) サンプルやバッファーを取り扱う際は、使い捨てガウン、手袋、保護眼鏡を着用してください。
- (5) バッファー類が汚染されないよう、使い捨ての Nuclease フリーのピペットチップを使用してください。

【廃棄物の取り扱い】

- (1) 廃棄する際は各国、各地域の法規制に従ってください。

バッファーの準備

初めて使用する前に、下記のバッファーに無水エタノールを加えて混合しておく必要があります。

ボトルのラベル	準備	保管	使用場面
Wash Buffer 1	20 mL の無水エタノールを加えてふたを閉めて混合します。 ※ラベルの「 <input type="checkbox"/> エタノール添加済み」にチェックを入れます。	+ 15～25℃で保管します。	プロトコールの(7)
Wash Buffer 2	80 mL の無水エタノールを加えてふたを閉めて混合します。 ※ラベルの「 <input type="checkbox"/> エタノール添加済み」にチェックを入れます。	+ 15～25℃で保管します。	プロトコールの(9) (10)

2-2. プロトコール

(1) 新しい 1.5 mL マイクロチューブに Binding Buffer を 300 μ L 添加し、これにサンプル 100 μ L を加え、ボルテックスミキサーを使用してよく混合します。

(2) 混合液中に沈殿が生じた場合は、10,000 x g で 1 分間遠心分離し、上清を新しい 1.5 mL マイクロチューブに移します。

(3) (1) の混合液もしくは (2) の上清に pH Optimizer を 40 μ L と無水エタノールを 400 μ L 加えて混合します。

(4) 混合液 700 μ L を Collection Tube をセットした Spin Column に添加します。

(5) Spin Column を 10,000 x g で 1 分間遠心分離します。

(6) Collection Tube のフロースルーを捨て、Spin Column を Collection Tube に戻します。

(7) Spin Column に 400 μ L の Wash Buffer 1 を添加します。

(8) Spin Column を 10,000 x g で 1 分間遠心分離し、フロースルーを捨てます。

(9) Spin Column に 400 μ L の Wash Buffer 2 を加えてから 10,000 x g で 1 分間遠心分離し、フロースルーを捨てます。

(10) Spin Column に 400 μ L の Wash Buffer 2 を加えてから 10,000 x g で 1 分間遠心分離し、Spin Column を新しい 1.5 mL マイクロチューブに移し替えます。

(11) Spin Column に 30 μ L の Elution Buffer を添加し、1 分間静置した後で 10,000 x g で 1 分間遠心分離し、RNA を溶出します。

(12) 溶出液をそのまま RT-PCR に使用するか、使用直前まで -80°C で保存します。

※本プロトコールでは RNA とともに DNA も精製されてしまうため、この後の実験に対して DNA の混入が望ましくない場合は、手順 (11) のあとに DNase 処理を行うなど、適切な処理を行ってください。

2-3. 簡易プロトコール

1.5 mL チューブに Binding Buffer (300 μ L) を添加

← サンプルを 100 μ L 添加してよく混合

(A) 沈殿がある場合

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温)

(B) 沈殿がない場合

← 軽くスピンドウン

新しい 1.5 mL チューブに上清を移動

← pH Optimizer (40 μ L) と無水エタノール (400 μ L) を加えて混合

Spin Column に混合液 700 μ L を添加

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温) し、フロースルーを廃棄

← Wash Buffer 1 (400 μ L) を添加

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温) し、フロースルーを廃棄

← Wash Buffer 2 (400 μ L) を添加

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温) し、フロースルーを廃棄

← Wash Buffer 2 (400 μ L) を添加

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温)

Spin Column を新しい 1.5 mL チューブに移す

← Elution Buffer (30 μ L) を添加し、1 分間静置

← 遠心分離 (10,000 x g, 1 分間, 室温) し、Spin Column を廃棄

1.5 mL チューブの溶出液を次の実験に使用

3. トラブルシューティング

現象	考えられる要因	改善策
RNA の収量が少ない	キットの保管状態が適切ではない。	+15~25℃で保管する。 バッファ類のふたをきちんと閉める。
	Wash Buffer 1 および Wash Buffer 2 にエタノールが添加されていない。	使用する前にエタノールを添加してから使用する。
	Binding Buffer とサンプルの混合が不十分。	混合時間を延ばす。混合後に数分間静置する。
	実験環境やサンプルの RNase 活性が高い。	RNase フリーの環境をつくる。 Binding Buffer とサンプルの混合を急ぐ。

4. 改訂履歴

2023.1 簡易プロトコールの追記

2021.8 誤字修正

2021.7 初版

5. 製品に関する技術的なお問い合わせ先

株式会社メタボスクリーン

Eメール : tech-service@metaboscreen.co.jp

URL : https://www.metaboscreen.co.jp/pr_nakit.html

お問い合わせは上記 E メールもしくはウェブページのフォームより承っております。