

Cell: Z6010 10preps, Z6011 50preps, Z6012 250preps
Tissue: Z6110 10preps, Z6111 50preps, Z6112 250preps

操作ステップ	Cell	Tissue																									
	細胞	非線維性組織	線維性組織																								
サンプル破碎	 BL+TG Buffer 添加 7~10回ピペッティング 1x10 ² ~5x10 ⁵ 100µl 5x10 ⁵ ~2x10 ⁶ 250µl 2x10 ⁶ ~5x10 ⁶ 500µl	 LBA+TG Buffer 添加 ホモジナイズ ≤5mg 250µl >5mg 500µl																									
Dilution Buffer 添加			 RNA Dilution Buffer(RDB)添加 ボルテックス 10sec インキュベーション 1min. 室温 ≤5mg 250µl >5mg 500µl																								
組織ホモジネート 澄清化		 14,000g x 3min. 室温 上清を新しいチューブに分注																									
100%イソプロパ ノール添加	 100%イソプロパノール添加 ボルテックス 5sec 1x10 ² ~5x10 ⁵ 35µl 5x10 ⁵ ~2x10 ⁶ 85µl 2x10 ⁶ ~5x10 ⁶ 170µl	≤5mg 85µl >5mg 170µl	≤5mg 170µl >5mg 340µl																								
カラム結合	 ミニカラムをCollection Tubeにセット 上清をミニカラムに分注 12,000~14,000g x 30sec~1min. 室温 (チューブ内廃液を捨てる)	試薬の調製 ◎ BL+TG Bufferの調製 BL Bufferに対し1/100量の1-Thioglycerol (TG)を添加。BL+TG Bufferは、2-10℃で30日間保存可能。 ◎ LBA+TG Bufferの調製 LBA Bufferに対し1/50量の1-Thioglycerol (TG)を添加。LBA+TG Bufferは、2-10℃で30日間保存可能。 ◎ RNA Wash Solutionの調製 <table><tr><th>カタログ番号</th><th>95% エタノール添加量</th></tr><tr><td>Z6012/Z6112</td><td>350ml</td></tr><tr><td>Z6011/Z6111</td><td>60ml</td></tr><tr><td>Z6010/Z6110</td><td>20ml</td></tr></table> ◎ Column Wash Solutionの調製 <table><tr><th>カタログ番号</th><th>95% エタノール添加量</th></tr><tr><td>Z6012/Z6112</td><td>36.0ml</td></tr><tr><td>Z6011/Z6111</td><td>7.5ml</td></tr><tr><td>Z6010/Z6110</td><td>1.5ml</td></tr></table> ◎ DNase-Incubation Mixの調製 (用時調製) Yellow Core Buffer 24µl 0.09M MnCl₂ 3µl DNase I 溶液*1 3µl (※サンプル数分用意) *1DNase I溶液の調製 (事前調製) <table><tr><th>カタログ番号</th><th>Nuclease Free Water添加量 (DNaseI vial)</th></tr><tr><td>Z6011/Z6012</td><td>275µl</td></tr><tr><td>Z6111/Z6112</td><td></td></tr><tr><td>Z6010/Z6110</td><td>80µl</td></tr></table> ※穏やかに攪拌して溶解 (ボルテックス不可) -20℃保存(分注推奨)		カタログ番号	95% エタノール添加量	Z6012/Z6112	350ml	Z6011/Z6111	60ml	Z6010/Z6110	20ml	カタログ番号	95% エタノール添加量	Z6012/Z6112	36.0ml	Z6011/Z6111	7.5ml	Z6010/Z6110	1.5ml	カタログ番号	Nuclease Free Water添加量 (DNaseI vial)	Z6011/Z6012	275µl	Z6111/Z6112		Z6010/Z6110	80µl
カタログ番号	95% エタノール添加量																										
Z6012/Z6112	350ml																										
Z6011/Z6111	60ml																										
Z6010/Z6110	20ml																										
カタログ番号	95% エタノール添加量																										
Z6012/Z6112	36.0ml																										
Z6011/Z6111	7.5ml																										
Z6010/Z6110	1.5ml																										
カタログ番号	Nuclease Free Water添加量 (DNaseI vial)																										
Z6011/Z6012	275µl																										
Z6111/Z6112																											
Z6010/Z6110	80µl																										
メンブレン洗浄	 500µl RNA Wash Solution 添加 12,000~14,000g x 30sec. 室温 (チューブ内廃液を捨てる)																										
DNase処理	 30µl DNase-Incubation Mix 添加 インキュベーション 15min. 室温																										
メンブレン洗浄①	 200µl Column Wash Solution 添加 12,000~14,000g x 15sec. 室温																										
メンブレン洗浄②	 500µl RNA Wash Solution 添加 12,000~14,000g x 30sec. 室温 (チューブ内廃液を捨てる)																										
メンブレン洗浄③ & 乾燥	 ※ミニカラムを新しいCollection Tubeにセット 300µl RNA Wash Solution 添加 12,000~14,000g x 2min. 室温																										
溶出	 ※ミニカラムをElution Tubeにセット 15~30µl Nuclease Free Water 添加 12,000~14,000g x 1min. 室温																										

Cell: Z6010 10preps, Z6011 50preps, Z6012 250preps

Tissue: Z6110 10preps, Z6111 50preps, Z6112 250preps

参考データ



細胞からのRNA収量・純度

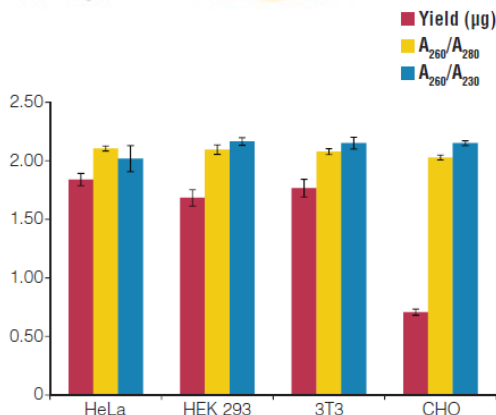


図1. ReliaPrep™ RNA Cell Miniprep Systemで精製された各種細胞からのRNA量と純度
各10万個の HeLa, HEK293, 3T3 およびCHO細胞から精製。



溶出ボリュームによる収量・濃度

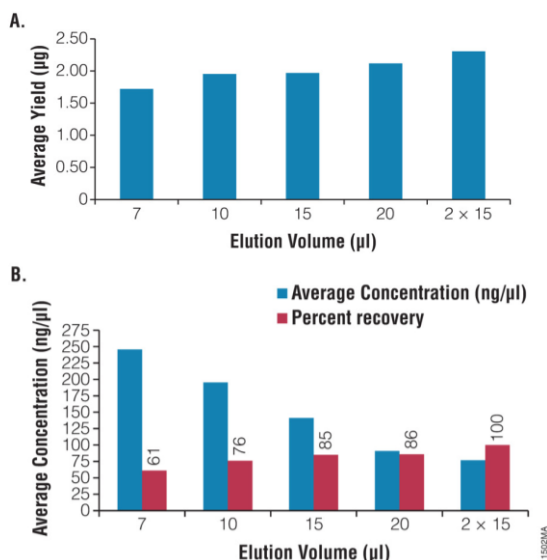


図2. 異なる溶出ボリュームによる収量と濃度

10万個の HeLa 細胞から精製。7-30(2 x 15)µlで溶出。

上段 A. 平均収量

下段 B. 平均濃度と回収率



マウス組織からの標準的な収量

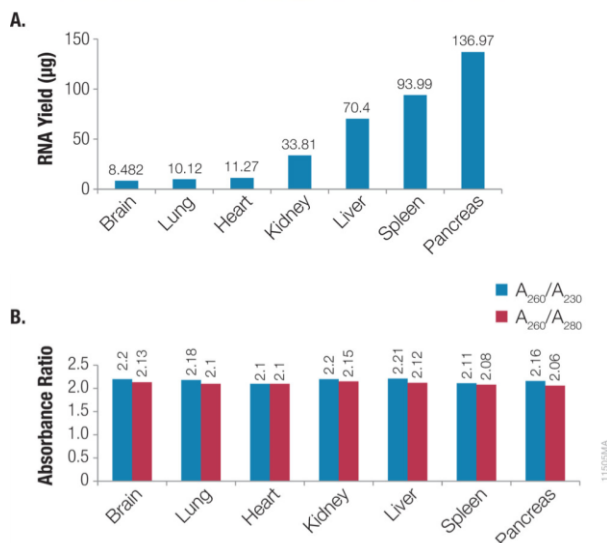


図3. 各組織試料10mg からReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep Systemを用いて精製

大切なRNAを守る！！ RNaseフリーの環境を作るポイント

1. RNA作業用専用スペースの確保
2. 使い捨てゴム手袋の着用
3. RNaseフリーのチューブやフィルターチップの使用
4. ピペットなどの器具や試薬類は“RNA専用”に
5. RNase除去剤の使用



ReliaPrep製品詳細・プロトコル詳細は、
下記WEBサイトをご確認ください。

www.promega.jp/Products/Nucleic-Acid-Extraction/rna/ReliaPrep-RNA-Miniprep-Systems/

