

## 取扱説明書

シカジーニアス® RNAプレップキット(植物用) DNase同梱品  
Cica Geneus® RNA Prep Kit (for Plant) with DNase I

## 1. はじめに

本製品は、葉、茎、根のような様々な植物組織から簡単にトータル RNA を精製するためのキットです。本製品は、植物組織に最適化したバッファシステムとシリカベースのメンブレンのスピнкаラムを組み合わせることで、様々なアプリケーションに適用可能な精製 RNA を調製することができます。

## 2. 製品形態

シカジーニアス® RNA プレップキット(植物用)	
製品名	DNase 同梱品 (Cica Geneus® RNA Prep Kit (for Plant) with DNase I)
製品番号	08055-96
容量	50 回分
保管温度	室温(15 °C~25 °C)

## 3. 構成試薬(50回)

個別名称	容量	用途
EzPure Filter (カラム:黄色) (コレクションチューブ付)	10 個×5	サンプルろ過
SV Column type W (カラム:透明) (コレクションチューブ付)	10 個×5	核酸結合
1.5 mL チューブ	50 個×2	エタノール混合、RNA 回収
①Buffer RPL	25 mL×1	植物組織溶解
②Buffer REL	25 mL×1	植物組織溶解
③Buffer RBW ※1	27 mL×1	RNA 結合促進
④Buffer RNW ※2	12 mL×1	カラム洗浄
⑤Nuclease-free water	15 mL×1	RNA 溶出
⑥Buffer DRB	5 mL×1	DNase I 処理
⑦DNase I ※3	240 Kunitz unit	ゲノム DNA の分解

## 4. 製品仕様

製品タイプ	スピнкаラム
最大サンプル量	100 mg
カラムへの最大ローディング量	700 µL
最少溶出液量	30 µL
カラムの最大 RNA 結合量	100 µg

## 5. 使用上の注意

本製品は、皮膚や眼、気道に対して有害な刺激物を含んでいます。本製品を扱う際は十分に注意し、手袋や保護メガネを着用して下さい。万が一試薬が付着した場合は、速やかに大量の水で洗い、医師の診察を受けて下さい。

①Buffer RPL、②Buffer RELと③Buffer RBW はカオトロピック塩を含んでいます。カオトロピック塩は漂白剤と混ぜると反応性の高い化合物を生じる可能性があります。本製品に漂白剤や酸性溶液が混入しないように十分注意して下さい。

RNase のコンタミネーションは RNA の分解を引き起こします。必ず手袋を着用し、RNase free グレードのプラスチック製品、ピペットチップ等を使用し、コンタミネーションに注意し作業を行なって下さい。

## 6. 必要な試薬・器具類

70 %エタノール、100 %エタノール、マイクロピペット、ピペット用チップ、1.5 mL チューブ、乳棒・乳鉢または細胞破碎装置、液体窒素、2 mL チューブ用遠心機、ボルテックスミキサー

## 7. プロトコール

## 【重要】実験を始める前の注意事項

※1:③Buffer RBW は、初回使用前にエタノール(分子生物学用)(別売)を 33 mL 加え、合計 60 mL としてからご使用下さい。

※2:④Buffer RNW は、初回使用前にエタノール(分子生物学用)(別売)を 48 mL 加え、合計 60 mL としてからご使用下さい。

※3:⑦DNase I(凍結乾燥品)を使用する際は、120 µL の⑤Nuclease-free water を加え溶解して下さい(ボルテックス等による激しい攪拌は避けして下さい)。溶解した DNase I 溶液は 1 検体につき 2 µL 使用します。必要に応じて小分けをし、-20 °C で保管して下さい。

- 液体窒素で凍らせた植物組織サンプルを乳棒・乳鉢等を用いて粉末状になるまですり潰します。すり潰したサンプル(最大 100 mgまで)を 1.5 mL チューブ(別売)に入れます。
- 350 µL の①Buffer RPL を加えてボルテックスミキサーで激しく攪拌した後、室温で 3 分間インキュベートします。  
\*ライセートの凝固が見られる場合は、①Buffer RPL の代わりに②Buffer REL を使用して下さい。
- 2)のライセートを EzPure Filter(カラム:黄色)に加え、室温で 30 秒間 10,000 × g 以上で遠心します。
- 3)のろ液(沈殿が認められる場合はその上清)を新しい 1.5 mL チューブ(付属)に移します。ろ液に等量の 70 %エタノール(通常は 350 µL)を加え、ピペティングまたは転倒混和で混合します。
- 4)の混合液を SV Column type W (カラム:透明)に加え、室温で 30 秒間 10,000 × g 以上で遠心します。ろ液を捨て、同じコレクションチューブに SV Column type W をセットします。
- 500 µL の③Buffer RBW を SV Column type W に加え、室温で 30 秒間 10,000 × g 以上で遠心します。ろ液を捨て、同じコレクションチューブに SV Column type W をセットします。
- 2 µL の⑦DNase I 溶液と 70 µL の⑥Buffer DRB をピペティングで混合して DNase I 希釈液を調製します。  
\*DNase I 希釈液は使用量だけを工事調製して下さい。
- SV Column type W のメンブレンの中心に 70 µL の DNase I 希釈液を加え、室温で 10 分間インキュベートします。
- SV Column type W に 500 µL の③Buffer RBW を加え、室温で 2 分間インキュベートします。
- 9)の SV Column type W を室温で 30 秒間 10,000 × g 以上で遠心します。ろ液を捨て、同じコレクションチューブに SV Column type W をセットします。
- 500 µL の④Buffer RNW を加え、室温で 30 秒間 10,000 × g 以上で遠心します。ろ液を捨て、同じコレクションチューブに SV Column type W をセットします。
- 手順 11)を繰り返します。
- 室温で 1 分間 10,000 × g 以上で遠心します。ろ液が付着しないように注意して SV Column type W を新しい 1.5 mL チューブ(付属)にセットします。
- SV Column type W のメンブレンの中心に 50 µL の⑤Nuclease-free water を加え、室温で 1 分間 10,000 × g 以上で遠心し、RNA を溶出します。  
\*用途に応じ、30~50 µL の⑤Nuclease-free water が使用可能です。  
\*溶出した RNA は -70 °C 以下にて保存して下さい。

◇本取扱説明書の補足資料として、本製品の操作方法を簡潔にまとめたプロトコールシートを当社 HP にて公開しております。こちらの資料もご活用下さい。

[https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46\\_m\\_pdf/757/pdf1.pdf](https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46_m_pdf/757/pdf1.pdf)



## 取扱説明書

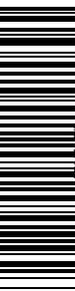
シカジーニクス® RNAプレップキット(植物用) DNase同梱品  
Clca Geneus® RNA Prep Kit (for Plant) with DNase I

## 8. トラブルシューティング

現象	考えられる原因	対策
RNA の回収量が少ない	サンプルの破碎が不十分	プロトコール1)に従い、十分に破碎を行なって下さい。
	サンプル量が多すぎる	サンプル量を減らして下さい。
	サンプル中の RNA 量が少ない	サンプル量を増やして下さい。
RNA が分解している	サンプル中の RNA が分解している	サンプル採取後、速やかに RNA を精製して下さい。
	RNase のコンタミ	RNase フリーの試薬、実験器具を使用して下さい。
	RNA 溶液の保存が不適切	精製した RNA 溶液は-70 °C 以下で保存して下さい。
EzPure Filter が目詰まりする	サンプルの破碎が不十分	プロトコール1)に従い、十分に破碎を行なって下さい。
RNA 溶液に DNA が混入している	DNase I 処理が正しく行なわれていない	十分な酵素反応を起こすため、DNase I 溶液はカラムのメンブレン中央部に加えて下さい。
	サンプル量またはサンプル中の DNA 量が多い	サンプル量を減らして下さい。
回収した RNA 溶液を用いた実験がうまくいかない	Buffer RNW に含まれるエタノールの残存	プロトコール 12)の後に遠心を追加して下さい。
	Buffer RBW と RNW の順序が逆になっている	プロトコールを確認し、正しい順序で洗浄して下さい。

## 9. その他

- 1) 本製品は試験研究用です。医療や臨床診断の目的には使用しないで下さい。
- 2) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、関係法令に従って処理して下さい。



7710391

