



RNA すいすい-F

RS-0005

～RNA 簡易抽出バッファー～

魚類体表粘膜・組織向け

取扱説明書

Ver. 1.01

RIZO Inc.

目次

	ページ
本製品の特長	3
内容物	3
保存条件	3
使用上の注意	3
その他必要な機器・試薬	4
試料からの RNA 抽出プロトコール	5-7
トラブルシューティング	8
本製品を用いた抽出例	9
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品「RNA すいすい-F」は、魚類の体表粘膜からの RNA 抽出に最適な抽出バッファーです。

魚の体表をスワブ（綿棒）で軽くこするだけで、魚体に傷をつけることなく RNA 抽出用試料を採取できます。

もちろん、ヒレや筋肉、内臓などの組織からの RNA 抽出にも使えます。精製カラムを使用せず操作ステップ数も少ないため、スピーディーで低コスト、かつ高収率の RNA 抽出が可能です。

*本製品には DNaseI は含まれておりません。残存 DNA の除去が必要なアプリケーションにご使用になる場合には、RNA 抽出後に DNaseI 処理を行ってください。

内容物

RNA すいすい-F 21mL（約 50 回分）

液色：黄色

酸性フェノールすいすい 20ml（酸性フェノール 40ml 分）

液色：赤紫色

保存条件

開封後は冷蔵保存（4℃）して下さい。

結晶が析出した場合には、しばらく室温に置き、溶解してからご使用ください。

使用上の注意

本試薬は研究目的以外にご使用にならないでください。また、RNA 操作及び試薬に関する基本的知識のある方以外は取り扱わないでください

*記載内容や製品仕様、および価格に関しては予告なしに変更する場合がございます。

その他必要な試薬・機器

試薬

2-メルカプトエタノール

イソプロパノール

99.5% エタノール

70% エタノール*

結晶フェノール

クロロホルム

滅菌蒸留水（DEPC 処理済みが望ましい）

* エタノール（分子生物学用）：滅菌蒸留水を 7：3 の容積比で混合したもの
をご利用ください。

機器

微量高速遠心機

ヒートブロックまたはウォーターバス

その他

1.5 ml チューブ

マイクロピペット

ピペットチップ

個別包装の綿棒（体表粘膜の場合）

丈夫なハサミ（体表粘膜の場合）

RNA すいすい-F の調製

1. 「RNA すいすい-F」に、99.5%エタノール 10ml を添加し、よく混合します（容器ラベルの口にチェックを入れてください）。

酸性フェノールの調製（手袋を着用して行ってください）

2. 「酸性フェノールすいすい」を、清潔なビーカーなどに移し（捨てないでください）、ボトルを空にします。
3. 空にしたボトルに結晶フェノールを8分目ほど入れ、65℃の湯浴で融解します（約 30ml の液体フェノールが得られます）。
4. 1. で移した「酸性フェノールすいすい」を2. のボトルに戻し、しっかり蓋をしめてシェイクします。
5. そのまま二層に分離するまで放置します。下層（赤紫色の層）が酸性フェノールになります（約 40ml の酸性フェノールが得られます）。
6. 調製後は4℃で保存してください。

分析試料からの DNA 抽出プロトコール

1. RNA すいすい-F 600 μ l を 1.5ml チューブに入れます。2-メルカプトエタノールを 6 μ l 加えて混合し、氷上に置きます。
2. 魚の体表をスワブ（綿棒）で軽くこすります。試料がヒレ、エラ、内臓、筋肉などの組織の場合には、5～50mg を目安に採取します。
3. 2. のスワブを1. のチューブに入れ、すみやかに本品となじませます。丈夫なはさみなどで軸を切り落とし、蓋をします。分析試料が組織の場合には、すみやかに本品となじませます^{注①}。
4. 酸性フェノール 300 μ l を加えて混合し、氷上で 10 分放置します。

5. クロロホルム 200 μ l を加えて混合し、氷上で 10 分放置します。
6. 15,000 rpm、10 分間遠心分離を行います。
7. 上清 300 μ l を新しい 1.5ml チューブに移し、イソプロパノール 300 μ l を加えてよく混和します。
8. 15,000 rpm、10 分間遠心分離を行います。
9. 上清を捨て^{注②}、70% エタノールを 500 μ l 入れ、沈澱の洗浄を行います。
10. 15,000 rpm、10 分間遠心分離を行います。
11. 上清を捨て、沈澱を乾燥（風乾）^{注③}します。
12. 50 μ l の滅菌水（DEPC 処理水）に溶解し^{注④}、RNA 試料とします。

***注①～⑤については下記の「注解および留意点」をご参照ください。**

注解

注①必要に応じ、ペッスル等で軽くつぶしてください。凍結試料の場合には、液体窒素存在下で粉碎後、バッファーに加えてすばやく混合してください。

注②沈澱が流出しないようご注意ください。

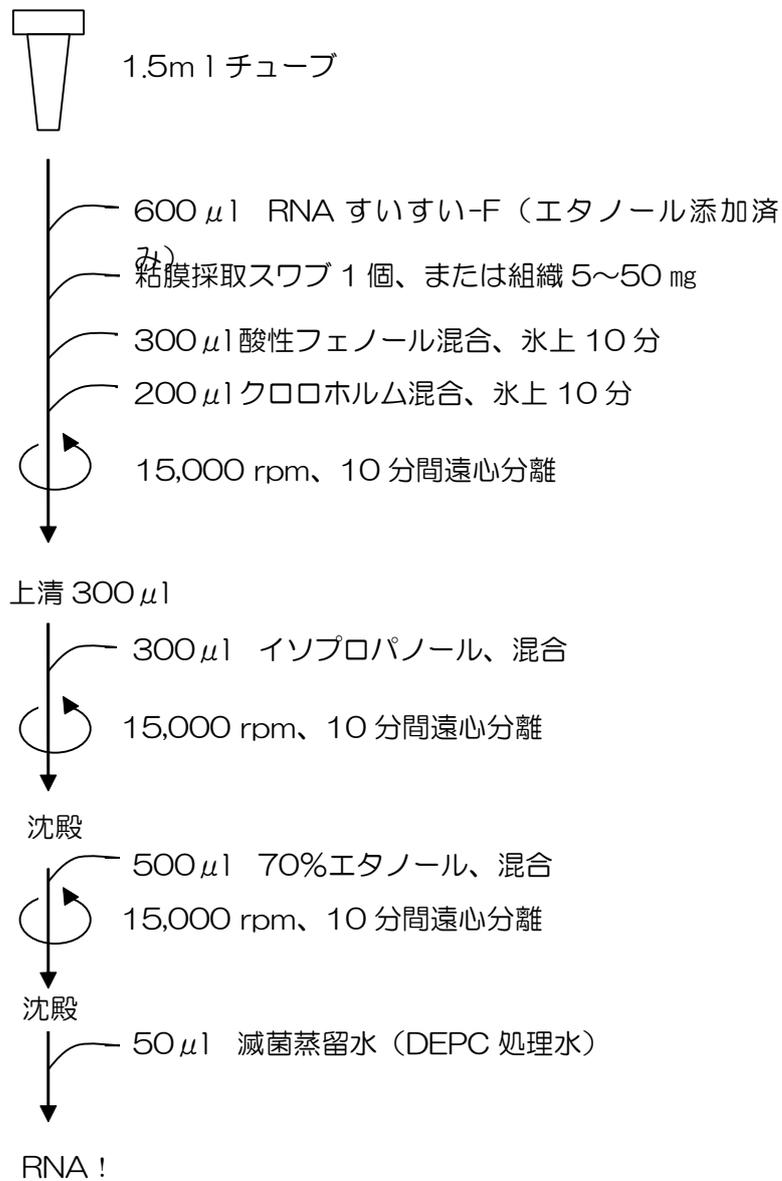
注③乾燥させすぎると水への溶解が困難になります。

注④試料の種類や状態、また使用目的により最適量が異なりますので、適宜調整して下さい。

留意点

本プロトコールは微量サンプルからの RNA 簡易抽出用に考案されていますが、多量のサンプル向けにスケールアップすることも可能です。

RNA 抽出プロトコール フローチャート



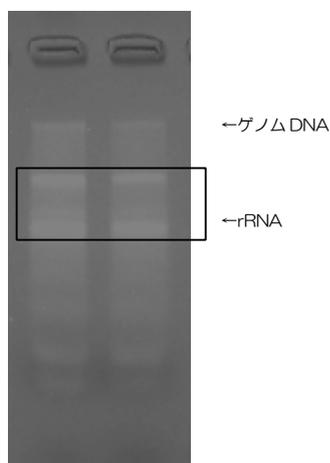
トラブルシューティング

問題	考えられる原因	対策
RNA の収量が低い。	試料の採取が不十分である。	体表粘膜がスワブ全体にからまる程度に採取してください。
	試料が本品に触れる前に RNA が分解している。	採取したスワブはすぐに RNA すいすい-F に浸してください。分析試料が組織の場合には、保存方法により RNA が分解する場合がありますのでご注意ください。
	RNase の阻害が不十分である	2-メルカプトエタノールを 12 μ l 程度まで増量してください。
夾雑物の混入が多い	試料の量が多すぎる。	試料の量を 1~10mg 程度に減らして抽出してください。
	タンパク質が非常に多いサンプルである。	得られた RNA にタンパク質が多く含まれる場合には、RNA 溶液を本品で 600 μ l に増量し、ステップ 4 以降を行ってください。

本製品を用いた抽出例

淡水魚（金魚）の体表粘膜からの RNA 抽出例

本製品を使用して、金魚の体表粘膜より RNA 抽出を行いました。



体表粘膜スワブ各 1 個分からプロトコルに従って抽出し、各 15 μ l を泳動しました。

分光光度計による測定の結果、スワブ 1 個分の粘膜から約 5.8 μ g の totalRNA が得られたことがわかりました。

(本品で抽出した RNA には、若干のゲノム DNA が残存します)

広告 関連製品のご案内

【DNA 抽出バッファー】

DNA すいすい-F

DS-0005 85ml 21,000円

☆ 魚類の体表粘膜スワブ・組織からの DNA 抽出が簡単に行える抽出バッファーです。

☆DNA 抽出用サンプルの一時保存液としてもご利用いただけます。

お問い合わせ先

株式会社リーゾ

研究部

茨城県つくば市天久保 2-9-2-B201

電話 ; 029-852-9351 FAX ; 020-4623-5611

E-mail ; info@rizo.co.jp

ホームページ ; <http://rizo.co.jp/>

Copyright ©2010 RIZO Inc. All Right Reserved.