

## Real Genomics

### Total RNA Extraction kit の Protocol Book

- 1、凍らせた植物組織を 50 mg (100 mg上限) 切り出す。
- 2、液体窒素下でサンプルを細かい粉末状に粉砕する。
- 3、チューブに移す。
- 4、500  $\mu$ l の RB buffer (又は PRB buffer) と 5  $\mu$ l  $\beta$ メルカプトエタノールを植物サンプル入ったチューブに加えて vortex する。
- 5、室温で 5 分間保温する。
- 6、フィルターカラム (白) にサンプル mixture をアプライする。
- 7、13000rpm で 2 分間遠心する。
- 8、フィルターカラムを取り除き、ろ液を新しいチューブに移す。
- 9、RB カラム (黄) をセットする。
- 10、8 の濾液の 1/2 量の 100%エタノールを加えて、すぐに vortex する。
- 11、エタノールを加えた 10、の mixture を 9、のカラムにアプライする。
- 12、13000rpm で 2 分間遠心する。
- 13、フロー画分を捨て、RB カラムを 2ml のコレクションチューブに移す。

### DNase 処理

- A、200  $\mu$ l の R-W1 buffer を RB カラムに加える。1 分間 13,000rpm で遠心して、フロー画分を捨てる。
  - B、10  $\mu$ l の DNase(RNase Free)+70  $\mu$ l Buffer RDD を混合したものをカラム膜に直接滴下する。
  - C、10~15 分間室温で静置する。
  - D、200  $\mu$ l の R-W1 buffer を RB カラムに加える。1 分間 13,000rpm で遠心して、フロー画分を捨てる。ステップ 16 に続く。
- 
- 16、600  $\mu$ l の R-Wash buffer (エタノール添加済み) を RB カラムに加える。  
13,000rpm で 1 分間遠心する。
  - 17、フロー画分を捨て、カラムをコレクションチューブに戻す。カラムを乾かすために 13,000rpm で 3 分間遠心する。
  - 18、乾いた RB カラムを RNase free のきれいなチューブに移す。
  - 19、50  $\mu$ l の RNase free 水をカラム膜の中心に滴下する。
  - 20、カラム膜に水が吸収されるまで、3 分間静置する。
  - 21、RNA を溶出するために 13,000 で 1 分間遠心する。

RB buffer : 通常のプロトコールに使う buffer

PRB buffer : 多量の多糖を含む植物サンプルに適している。