クイックガイド

FastGene™ RNA Premium Kit

培養細胞および組織等からのトータルRNAの精製とゲノムDNA除去

FG-81006 (6preps), FG-81050 (50preps), FG-81250 (250preps)

ステップ	スタンダードプロトコル	ラージインプットプロトコル
サンプルの準備と量の確認	< 5×10⁶ 培養細胞 < 10 mg 組織	< 1×10⁷ 培養細胞 < 20 mg 組織
細胞の溶解とホモジナイズ	350μL バッファー RL※1 添加後 十分にホモジナイズ Ⓢ	600μL バッファー RL※1 添加後 十分にホモジナイズ Ⓢ
ライセートの清澄化	FastGene™ RNA filter column FastGene™ RNA filter columnにライセート添加 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 1 min FastGene™ RNA filter column廃棄後　ろ液を回収	
カラム結合条件の調整	350μL 70% エタノール ピペッティングで混合	600μL 70% エタノール ピペッティングで混合
カラム結合	FastGene™ RNA binding column FastGene™ RNA binding column に最大700μLまでのサンプル溶液を添加 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 1 min （上記をサンプル溶液がなくなるまで繰り返す） ろ液廃棄後　カラムを元のコレクションチューブ (2.0mL) に戻す	
メンブレン洗浄 1 (タンパク除去)	600μL バッファー RW1 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 30 s カラムを新しいコレクションチューブ (2.0mL) に移す	
メンブレン洗浄 2 (塩類の除去)	700μL バッファー RW2※1 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 30 s カラムを新しいコレクションチューブ (2.0mL) に移す	
メンブレン乾燥	フルスピードで遠心 (室温：20～25℃) 1min カラムを新しいコレクションチューブ (1.5mL) に移す	
溶出	50μL バッファー RE (注：メンブレンの中央に添加) ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 1 min FastGene™ RNA binding column 廃棄後　溶出液を回収 Ⓢ	
DNase I 反応条件の調製	5μL 10x DNase I reaction buffer	
DNase I 反応 (DNAの分解)	1μL DNase I※1　ピペッティングで混合 (ピペットを50μLにセット) インキュベート (室温：20～25℃) 10 min	
カラム結合条件の再調整	250μL バッファー RBD※1 ピペッティングで混合	
カラム結合	FastGene™ RNA mini-elute column FastGene™ RNA mini-elute columnにサンプル溶液を添加 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 1 min ろ液廃棄後　カラムを元のコレクションチューブ (2.0mL) に戻す	
メンブレン洗浄 3 (塩類と分解DNAの除去)	700μL バッファー RW2※1 ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 30 s カラムを新しいコレクションチューブ (2.0mL) に移す	
メンブレン乾燥	フルスピードで遠心 (室温：20～25℃) 1 min カラムを新しいコレクションチューブ (1.5mL) に移す	
溶出	適量※2の バッファー RE (注：メンブレンの中央に添加) ≥ 10,000 x g (室温：20～25℃) 1 min FastGene™ RNA mini-elute column廃棄後　溶出液を回収	

※1：これらの試薬は事前調製が必要です。 ※2：スタンダードプロトコル20μL (10～50μL)、ラージインプットプロトコル50μL (20～50μL)

Ⓢ Safety Stopping Point. この操作後、-70℃以下での保存も可能です。

日本ジェネティクス株式会社 http://www.n-genetics.com
M0078

Quick Guide

FastGene™ RNA Premium Kit

For purification of total RNA (gDNA removed) from animal cells/tissues

FG-81006 (6preps) , FG-81050 (50preps) , FG-81250 (250preps)

Step	Standard protocol	Large input protocol
Sample quantity	< 5×10⁶ cultured animal cells < 10 mg animal tissues	< 1×10⁷ cultured animal cells < 20 mg animal tissues
Resuspension/ homogenization by cell lysis	350μL buffer RL※1 Vortex vigorously (S)	600μL buffer RL※1 Vortex vigorously (S)
Filtration of cellular debris	FastGene™ RNA filter column Transfer lysate into a FastGene™ RNA filter column Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Discard filter column, Harvest flow-through	
Optimize RNA binding conditions	Add 350μL 70 % ethanol Mix thoroughly by pipetting	Add 600μL 70 % ethanol Mix thoroughly by pipetting
RNA binding	FastGene™ RNA binding column Load mix (up to 700μL) onto FastGene™ RNA binding column Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Repeat the procedure for larger volume. Discard flow-through, Re-insert binding column in collection tube (2.0 mL)	
Protein elimination	Add 600μL of buffer RW1 Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 30 s Transfer binding column to new collection tube (2.0 mL)	
Desalination	Add 700μL of buffer RW2※1 Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 30 s Transfer binding column to new collection tube (2.0 mL)	
Removal of RW2	Centrifuge at full speed (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Transfer binding column to new collection tube (1.5 mL)	
Elution of RNA	Add 50μL of buffer RE to membrane center Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Discard binding column, Harvest eluted solution (S)	
Optimize DNase I conditions	Add 5μL 10x DNase I reaction buffer	
DNA digestion	Add 1μL of DNase I※1 to the mixture Mix thoroughly by pipetting Incubate for 10 min(at room temp. 20-25℃)	
RNA rebinding optimization	Add 250μL of buffer RBD※1 to the mixture Mix thoroughly by pipetting	
RNA binding	FastGene™ RNA mini-elute column Transfer mixture into FastGene™ RNA mini-elute column Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Discard flow-through, Re-insert binding column in collection tube (2.0 mL)	
Desalination/ Elimination of digested DNA	Add 700μL buffer RW2※1 Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 30 s Transfer mini-elute column in new collection tube (2 mL)	
Removal of RW2	Centrifuge at full speed (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Transfer mini-elute column in new collection tube (1.5 mL)	
Elution of RNA	Add appropriate volume※2 of buffer RE to the membrane center Centrifuge at ≥ 10,000 x g (RT : 20 ~ 25℃) 1 min Discard mini-elute column, Harvest eluted solution	

※1 : need preparation before use. ※2 : Standard protocol 20μL (10 ~ 50μL)、Large input protocol 50μL (20 ~ 50μL)

(S) Safety Stopping Point. Sample after homogenize step or 1st elution step can be stored at -70℃.

NIPPON GENETICS EUROPE GmbH

(English web page) www.nippongenetics.eu (German web page) www.nippongenetics.de

2017 NOV/Rev.01.0