

スギの葉からの total RNA抽出

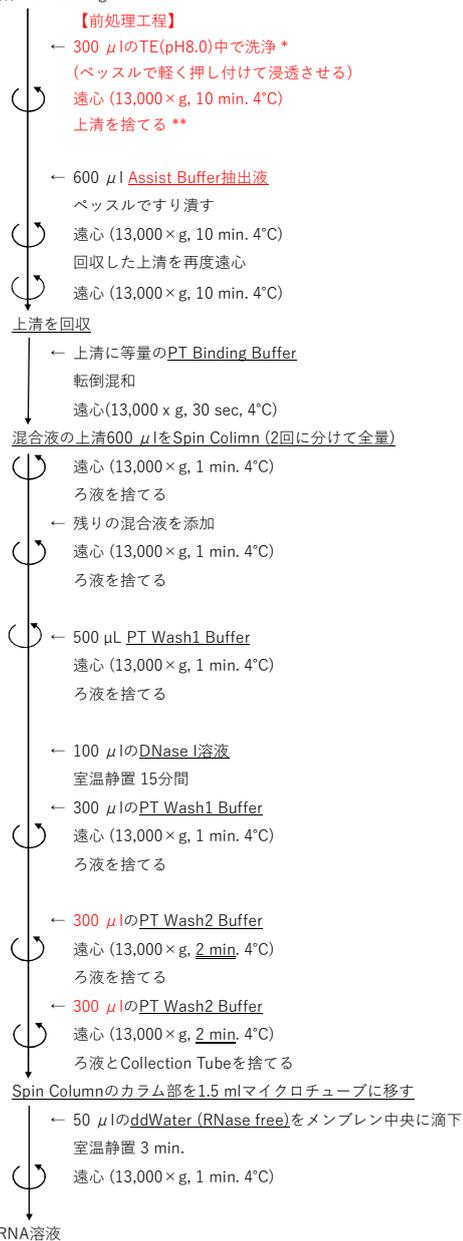
使用キット： ・ ISOSPIN Plant RNA (Code No.310-08171,316-08173) + Assist Buffer for ISOSPIN Plant RNA (Code No.315-08501)
もしくは

・ ISOSPIN Plant RNA (with Assist Buffer) (Code No.311-09061)

- 変更点： ① TE Bufferによる前処理工程を追加 (粘性物質の除去)
② Assist Bufferの併用
③ PT Wash2 Bufferによる洗浄工程の変更

<簡易プロトコール>

スギの葉：5 - 100 mg



備考

少量の試料から検討を始め、段階的に量を増やす。

*前処理は押し付ける程度にする。粉碎するとRNAが溶出し収量が低下する。(目安は葉の色が濃くなる程度)

前処理後の試料は、速やかに液体窒素中で凍結させるかすぐに以降の抽出ステップに進める。

**粘性物質の混入を最小限にするため、上清は可能な限り除去する。

Assist Buffer抽出液(全量600 μ l)は以下を用事調製

- ・ PT Extraction Buffer (植物用) : 500 μ l
- ・ Assist Buffer 1 : 60 μ l
- ・ Assist Buffer 2 : 40 μ l

RNAの分解を避けるために4°Cを推奨 (以下、遠心操作は同様)

DNase I溶液は以下を用事調製

- ・ 10 \times DNase I Buffer : 10 μ l
- ・ DNase I (RNase free) : 30 units
- ・ ddWater (RNase free) : up to 100 μ l

*DNase Iの活性は、ロットにより9 - 14 units/ μ lで異なる

PT Wash2 Bufferによる洗浄工程を300 μ l \times 2回に変更する。

データ

- ① 吸光度測定 (収量および純度)
- ② 電気泳動

データ

①吸光度

試料	A260/280	A260/230	RNA収量
スギ(葉)	2.02	1.39	46 ng/mg

②電気泳動

アプライRNA量：5 μ l

