クイックガイド

NIPPON Genetics Co.,Ltd.

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	< 5×10^6 培養細胞 < 10 mg 組織	< 1×10^7 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 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 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 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 サンプル溶液がなくなるまで繰り返す	
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 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。

Quick Guide

NIPPON Genetics Co.,Ltd.

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	< 5×10^6 cultured animal cells < 10 mg animal tissues	< 1×10^7 cultured animal cells < 20 mg animal tissues
Resuspension/ homogenization by cell lysis	 350μL buffer RL※1 Vortex vigorously Ⓢ	 600μL buffer RL※1 Vortex vigorously Ⓢ
Filtration of cellular debris	 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	 Load mix (up to 700μL) onto FastGene™ RNA binding 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) Repeat the procedure for larger volume.	
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 Ⓢ	
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	 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)

Ⓢ 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