

SPRIselect 追加プロトコル miRNA のサイズセレクション



本追加プロトコルは簡易版です。使用前には、正式な製品マニュアルと Supplemental Protocol (英文)を必ずご一読ください。

Material Supplied by the User

反応プレート/チューブ

96 ウェル PCR プレート 例: ABgene product # AB-0800; AB-2800 or AB-1400

96 ウェル 300 μ L 丸底プレート 例: Costar # 07-200-105

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルプレート 例: Product # AB-1127

1.5 ml マイクロチューブ

磁気プレート/スタンド

A32782 SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

A29182 Agencourt SPRIstand 6 Position Tube Magnet

試薬

85%エタノール (用時調製)

100%イソプロパノール

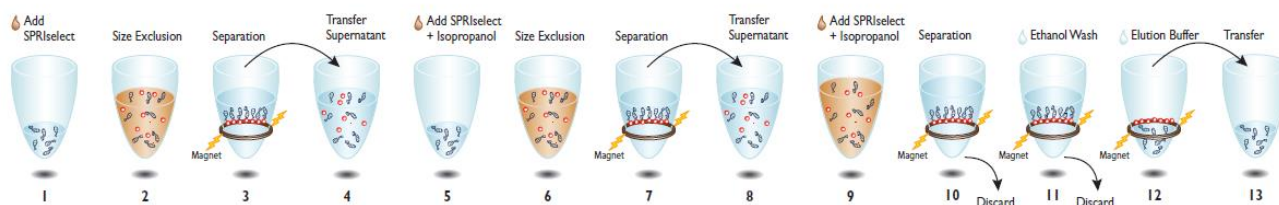
溶出液: DNase/RNase フリー水、10 mM Tris-HCl, pH 8.5

Sample Prerequisites

1. サンプルは一本鎖 RNA 10 μ g 以下としてください。
2. サンプルは分子生物学グレードの DNase/RNase フリー水か 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 に溶解してください。
3. サンプル容量は 50 μ L 以上としてください。50 μ L 以下の場合にはメスアップしてください。

Procedure

miRNA ENRICHMENT PROCESS OVERVIEW



18~60 nt の miRNA や small RNA を回収する場合は、ステップ 1~19 の全てを行ってください。

18~200 nt のフラグメントサイズの RNA を回収する場合は、ステップ 5~7 を省略してください。

1. サンプル 50 μ L あたり、SPRIselect 90 μ L を加えます。
2. ピペッティング 10 回後に 5 分間静置し、DNA 断片と磁性ビーズを結合します。
3. 磁気プレート/スタンド上で 5 分間または溶液が透明になるまで静置します。
4. 磁気プレート/スタンド上で上清 (約 140 μ L; 18~200 nt の RNA を含む) を新しいプレート/チューブに移します。
磁性ビーズには ribosomal RNA などが含まれているので、新しいプレート/チューブに持ち込まないようにしてください。
5. 上清に SPRIselect 70 μ L と 100%イソプロパノール 90 μ L を加えます。
6. ピペッティング 10 回後に 5 分間静置し、磁気プレート/スタンド上で 10 分間または溶液が透明になるまで静置します。
7. 磁気プレート/スタンド上で上清 (約 300 μ L; 主に miRNA を含む) を新しいプレート/チューブに移します。
磁性ビーズには 100~200 nt の RNA が含まれているので、新しいプレート/チューブに持ち込

まないようにしてください。

8. 上清に SPRIselect 90 μ L と 100%イソプロパノール 270 μ L を加えます。
9. ピペッティング 10 回後に 5 分間静置します。
10. 磁気プレート/スタンド上で 15 分間または溶液が透明になるまで静置します。
11. 磁気プレート/スタンド上で上清を除去します。
磁性ビーズには miRNA が含まれているので、磁性ビーズを除去しないでください。
12. 磁気プレート/スタンド上で 85%エタノール 500 μ L を加え、30 秒静置します。
85%エタノールは、非変性エタノールから用事調製します。
13. 磁気プレート/スタンド上で上清を除去します。
磁性ビーズには miRNA が含まれているので、磁性ビーズを除去しないでください。
14. ステップ 12~13 の 85%エタノール洗浄を再度繰り返してください。
15. 磁気プレート/スタンド上で磁性ビーズを 5~10 分間乾燥させます。
16. 磁気プレート/スタンドから下ろし、分子生物学グレードの DNase/RNase フリー水か 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 を 20~50 μ L 加えてください。
17. ピペッティング 10 回で磁性ビーズを再懸濁した後に、2 分間静置します。
18. 磁気プレート/スタンド上で 2 分間または溶液が透明になるまで静置します。
19. 磁気プレート/スタンド上で miRNA を含む上清を、新しいプレート/チューブに移します。溶出した miRNA は、-80°C で長期間保存が可能です。



180713_SUP-JP_SPRIselect_miRNA_13

ベックマン・コールター株式会社

本社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 ☎ 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 ☎ 03-5530-2460
✉ bckkcas@beckman.com 🌐 <http://www.beckmancoulter.co.jp>

