

Product Information

RNAlater™

組織用 RNA 安定化溶液

製品番号 R0901

室温で保存して下さい。

製品概要

RNAlater™ は水性・非毒性の組織保存用試薬で、組織に素早く浸透して非凍結サンプル中の細胞性 RNA を *in situ* で安定化させ、保護します。RNA の質および量を損なわずに保存するため、組織片を採取後、直ちに RNAlater に浸漬させます。RNAlater の使用により、組織サンプルを直ちに処理したり、後日処理するため液体窒素で凍結したりする必要がなくなります。

RNAlater に浸漬することにより、組織中の RAN を、37 °C で 1 日、25 °C で 1 週間、4 °C で 1 ヶ月以上保存できます。さらに、組織は -20 °C または -80 °C で長期間保存可能です。

RNAlater は、脳、心臓、腎臓、脾臓、肝臓、精巣、骨格筋、脂肪、肺、胸腺などの、数種類の脊椎動物から採取した組織を用いて広範な試験を実施しています。RNAlater は *E. coli* (大腸菌)、*Drosophila* (ショウジョウバエ)、組織培養細胞、白血球、一部の植物にもご使用いただけます。

RNAlater は、TRI Reagent® *、GenElute total RNA isolation、mammalian mRNA isolation kit など、ほとんどの RNA 抽出法に適応しています。

免責事項

RNAlater は試験研究用製品です。医薬品、家庭での使用など試験研究用以外の用途には使用できません。

保存方法と安定性

RNAlater は室温で保管して下さい。RNAlater に沈殿が生じた場合には、37 °C に温めて攪拌し、再溶解させて下さい。

操作手順

RNAlater は新鮮な組織にだけお使いいただけます。RNAlater に浸漬する前に組織を凍結しないで下さい。

A. 組織サンプルの調整

1. 動物組織

いずれか 1 辺の長さが最大 0.5 cm (例 0.5 cm×1 cm×1 cm) になるように組織サンプルを切り、新鮮な状態で 5 倍量の RNAlater、に浸漬し、下記の part B に示した適切な温度で保存して下さい。RNAlater によって、組織サンプルの構造が溶解または分離することはありません。ラットの肝臓、腎臓、脾臓などの小さい臓器は、丸ごと RNAlater 中で保存できます。

2. 植物組織

多くの植物組織は、5 倍量の RNAlater に浸漬するだけで保存できます。RNAlater を使用した場合、タバコの葉の外植片、シロイヌナズナおよびアルファルファの実生全体、ジャガイモの茎頂の RNA が損傷なく抽出できることが試験で確認されています。葉表面のロウ状コーティングのように、拡散を妨げる天然の障害物を持つ植物組織は、RNAlater を組織に浸透させるため、破碎する必要があります。ロウ状コーティングを壊すためのあらゆる破碎方法 (角切りにする、物理的に引き裂くなど) が適用できます。

3. 組織培養細胞

標準的な実験用プロトコールに従って細胞をペレット状にしてください。PBS またはこれに相当するバッファーで細胞を洗浄し、培地を除去して下さい。RNAlater をより簡単に細胞に浸透させるため、少量の PBS に細胞を再懸濁させて細胞ペレットを「ゆるめて」下さい。細胞を再懸濁させた後、約 5~10 倍量の RNAlater を細胞懸濁液に添加します。細胞ペレットをこれ以上リンスする必要はありません。

4. 白血球

白血球は、赤血球および血清から分離した状態で組織培養細胞と同様に処理した場合、RNAlater で効果的に保存することができます。RNAlater は、全血、血漿、血清中の RNA の保存には推奨されません。このような液体はタンパク質含有量が高いため、RNAlater と混合した場合、不溶性沈殿物を生じる可能性があります。

5. 細菌

RNAlater は静菌的な試薬です。細菌は RNAlater 中では成長しませんが、細胞に損傷はありません。*E. coli* (大腸菌) を RNAlater 中に 4 °C で 1 ヶ月間保存した場合、損傷はなく、未分解の RNA が得られます。

B. RNAlater 中でのサンプルの保存

1. -80 °C での保存

長期保存には -80 °C での保存が推奨されます。塩の結晶形成を防ぐため、-80 °C で保存する前に、サンプルを 4 °C で一晩インキュベートし、RNAlater から取り出して下さい。組織培養細胞は、RNAlater から取り出さずに溶液全体を凍結して下さい。
評価している細胞は、RNAlater 中で -80 °C で凍結した場合、溶解しません。保存後のサンプルは、復元可能な RNA の量または完全性に影響を与えずに、室温で融解することができ、再凍結もできます。

2. -20 °C での保存

長期保存には -20 °C での保存が推奨されます。サンプルを 4 °C で一晩インキュベートし、その後 -20 °C に移行します。サンプルは -20 °C では凍結しませんが、保存バッファー中に結晶が形成されることがあります。この結晶はその後の RNA 単離に影響しません。結晶が気になる場合には、-20 °C でサンプルを保存する前に RNAlater を除去して下さい。保存後のサンプルは、復元可能な RNA の量または完全性に影響を与えずに、室温で融解することができ、再凍結もできます。

3. 4 °C での保存

サンプルは 4 °C で 1 ヶ月間保存でき、RNA の分解に関する実験的証拠も見られません。

4. 常温での保存

25 °C で 1 週間保存したサンプルから単離した RNA に損傷は認められません。25 °C で 2 週間保存したサンプルから単離した RNA には、わずかに分解が認められます (ノーザン分析ではかろうじて許容でき、ヌクレアーゼ保護アッセイまたは RT-PCR 法では十分な質)。常温が 25 °C を上回る場合には、可能であれば、サンプルを常温で保存する前に、RNAlater 中で数時間氷上でインキュベートして下さい。

5. 37 °C での保存

37 °C で保存したサンプルから単離した RNA に関しては、24 時間インキュベートした後では損傷は認められませんが、3 日間インキュベートした後では部分的な分解が認められます。

C. RNA/later 中のサンプルからの RNA 単離

RNA/later をサンプルから除去した後は、水道水とともに流し台から廃棄できます。

1. RNA/later 中に保存していた組織を滅菌済みのピンセットを用いて保存液から取り出し、RNA 単離用の溶解液に浸漬して下さい。一度組織を溶解/変性液に入れた後は、迅速にホモジナイズして下さい。RNA/later 中に保存した組織は、固くなり弾力が増すため、新鮮な組織と比べて十分にホモジナイズするのが難しい場合がありますのでご注意ください。メスを用いて組織を小さい角切りにすると、迅速にホモジナイズできます。RNA/later 中に保存されていた動物組織は、保存液から取り出してより小さく切り分けることができ、また、必要があれば RNA/later 中に戻すこともできます。
2. RNA/later 中に保存されていた細胞は、遠心分離によって取り出すことができます。また、細胞と RNA/later の混合液から RNA を抽出することもできます。
3. 遠心分離: RNA/later は、標準的な細胞培養培地より密度が高いため、通常生細胞に用いられる遠心力では細胞がペレット状にならないことがあります。遠心分離により細胞をペレット状にし、吸引により RNA/later を除去して下さい。HeLa 細胞には約 3000 x g が適していますが、その他の細胞に対しこの速度は許容範囲外となる場合があります。あるいは、ペレット状にするためにより高い遠心力が必要になる場合があります。

4. 破砕/抽出: RNA/later 中に保存されていた細胞からは、シングルステップ disruption (破砕) /抽出液 (例: TRI Reagent、製品番号 T9424) を用いて RNA 抽出が可能です。この操作は、10 倍量の前述のシングルステップ試薬を細胞混合液に加えた後、通常通りの手順で実施できます。その他の破砕/抽出液を使用される場合には、RNA 沈殿段階の前に水相の希釈が必要になることがあります。

RNA単離に関する補足

1. グラスファイバーフィルターを用いる RNA 単離キットを使用される場合には、バキュームマニホールドの使用とは異なり、フィルターからライセートを押し出すために遠心分離が必要になることがあります。
2. RNA/later 中で保存したサンプルに対して TRI Reagent のようなシングルステップ RNA 分離製品を使用すると、液相が懸濁することがあります。懸濁が生じても、使用説明書または製品説明書の指示に従ってそのまま操作を継続して下さい。液相の懸濁は、分離される RNA の質または量に影響しません。

RNA/later は、Ambion Inc. (テキサス州オースティン) の商標であり、米国および海外の多くの特許を取っています。TRI Reagent は Molecular Research Center Inc. の登録商標です。

関連製品

GenElute™ Mammalian Total RNA Miniprep Kits、製品番号 RTN-10、RTN-70、RTN-350

GenElute™ Direct mRNA Miniprep Kits、製品番号 DMN-10、DMN-70

GenElute™ mRNA Miniprep Kits、製品番号 MRN-10、MRN-70

TRI Reagent、製品番号 T9424

6/01

Sigma ブランド製品は Sigma-Aldrich, Inc. を通じて販売されています。

Sigma-Aldrich, Inc. は、同社製品がこの文書およびその他の Sigma-Aldrich 発行文書に含まれる情報に合致していることを保証します。お客様の個別の用途と製品の適合性についてはお客様にてご判断下さい。掲載の品目、製品情報、価格などは予告なく変更される場合がございます。

納品伝票または同梱の内容明細書の裏面をご覧ください。