
FUJIFILM**Wako**

< For research Use Only >

Code No. 180-01891 (50 reactions)

for genetic research

**RNastabilizer, Irreversible RNase
Inactivation Reagent**

[Introduction]

RNastabilizer is a reagent that effectively stabilizes RNA prepared from organs containing a large amount of RNase, such as pancreas, liver and kidney. RNase contamination in the isolated RNA sample can induce experimental failure. A minute small amount of residual RNase may cause degradation of RNA.

RNastabilizer is a unique non-protein reagent that will irreversibly inactivate RNase in the RNA preparation step. RNastabilizer is applicable to commercial RNA isolation kits based on a solid-phase method with silica matrix. RNastabilizer can aid in the preparation of high quality, stable RNA preparation by virtue of inactivating RNase irreversibly.

[Advantages]

- Irreversible inactivation of RNase.
- Inhibition of reactivating RNase, which is inactivated once by a reducing agent such as mercaptoethanol.
- Preparing very stable RNA from organs such as pancreas, liver and kidney, which contain a large amount of RNase.
- Applicable to the commercial RNA isolation kits based on a silica-matrix method, such as Invitex GmbH's and QIAGEN's kits.

[Contents]

3.5 mL (in methanol) × 1

[Storage and Stability]

Store at -20 °C (in a dark place).

Reagent expiration dates are listed on the product label.

RNastabilizer solution is guaranteed for 1 year from the manufacture day under the above-mentioned conditions. If the color of the solution changes to light yellow or yellow, do not use it. If any precipitation of RNastabilizer is seen, redissolve it by vortex before use. This precipitation does not affect the quality

[Reactions]

50 reactions (for Invitek's kit)

[Method]

1. Note before starting
If any precipitation of RNastabilizer is seen, redissolve by vortex, and then place at room temperature.
2. Standard protocol
RNastabilizer is applicable to the washing step in RNA isolation kits based on silica matrix method. Please refer to the below-mentioned protocol, and apply to the applicable RNA isolation kit.
 - (1) Add 0.1 volume of RNastabilizer to the washing solution^(*) for the first of the washing steps.
(*) Generally, the RNA isolation kit uses two types of washing solution in the column washing steps. For example:
Invitek's kit : "Wash Buffer R1" of Invisorb Spin Tissue RNA mini Kit
QIAGEN's Kit : "Buffer RW1" of RNeasy Mini Kit

The mixture of washing solution and RNastabilizer can not be stored. This mixture should be prepared just before use.

- (2) Please refer to the manufacture's manual of your RNA isolation kit until RNA-adsorbing to silica matrix.
- (3) Add the RNastabilizer-containing washing solution (adequate volume as described in the protocol of your kit) to the spin column.
- (4) Incubate for 20 minutes at room temperature. Then, centrifuge at a recommended speed in the manufacture's manual of your RNA isolation kit.
- (5) Wash the column with the second washing solution, which does not contain RNastabilizer, according to the manufacture's manual of your RNA isolation kit.

After RNA-binding to the silica column, be sure to carry out both times of washing steps, which are the 1st washing step with RNastabilizer and the 2nd step without it. The effect of the RNastabilizer does not appear except for the addition of RNastabilizer to the first washing step.

- (6) Carry out the following elution step according to the manufacture's manual of your RNA isolation kit.

[The example of use]

Application protocol of RNastabilizer to Invisorb Spin Tissue RNA Mini Kit (Invitek GmbH : Code No. 10607002) :

- (1) Add 50 μ L of RNastabilizer to 500 μ L of Wash Buffer R1 and mix.

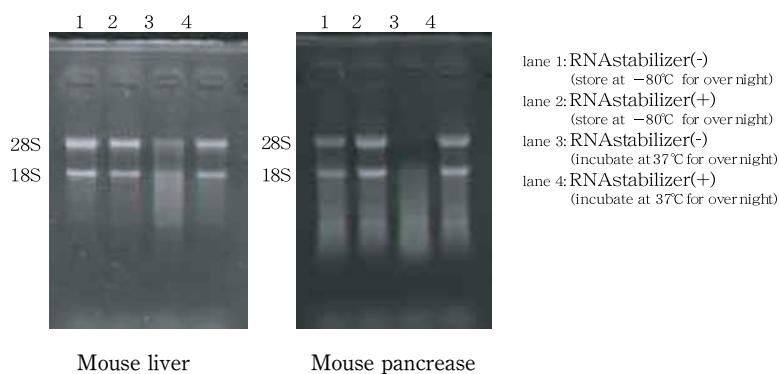
- (2) Add 500 μ L of Wash Buffer R1 containing RNastabilizer to the spin filter, and place at room temperature for 20 min.

The mixture of washing solution and RNastabilizer can not be stored. This mixture should be prepared just before use. The effect of the RNastabilizer does not appear except for the addition of RNastabilizer to the first washing step.

- (3) Centrifuge at $10,000 \times g$ for 30 sec. at room temperature.
(4) After the next washing step with Wash Buffer R2, please refer to the manufacturer's manual of RNA isolation kit.

[Result] Preparation of total RNA from mouse liver and pancreas using RNastabilizer :

The extracted total RNA was run on denaturing agarose gel after incubation at 37 °C over night. Total RNA extracted using RNastabilizer has high purity and superior storage stability by virtue of irreversible RNase inactivation.



Related products

Catalog No.	Description	Package Size
10607002	Invisorb TM Spin Tissue RNA Mini Kit	50 reactions
10607003	Invisorb TM Spin Tissue RNA Mini Kit	250 reactions

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://ffwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

Code No. 180-01891 (50 回用)

遺伝子研究用

RNAスタビライザー，RNase不可逆的不活化試薬

〔はじめに〕

RNA スタビライザーは、肝臓、すい臓、腎臓など RNase 含有量が非常に多い臓器組織から精製する RNA の保存安定性を向上させるための試薬です。メタノールに溶解した RNA スタビライザーを、シリカ担体などを利用した核酸吸着フィルトレーション法による既存の RNA 精製試薬（Invitek社など）に適用すると、検体に由来する RNase を不可逆的に不活化し、保存安定性に優れた高品質 RNA の取得を可能にします。

〔特 長〕

- ・メルカプトエタノールなどの還元剤により一旦不活化された RNase の再活性化を阻止し、不可逆的に RNase を不活化します。
- ・肝臓、すい臓、腎臓など RNase 含有量が非常に多い臓器から保存安定性の高い RNA の精製を可能にします。
- ・シリカ担体などを使った核酸吸着フィルトレーション法による既存の RNA 精製試薬（Invitek社、QIAGEN社など）に適用して、回収率には影響を与えずに、高品質 RNA を取得することができます。

〔包装形態〕

3.5 mL（メタノール溶液）× 1 本

〔保 存〕

－20℃（遮光保存）

1 年間は使用可能ですが、保存環境や使用状況などにより劣化速度などが異なりますので、溶液の着色具合を目安とし、淡黄色～黄色を呈してきた場合は、使用を止めて下さい。
溶液の保存中に析出する場合がありますが、品質には影響ありませんので、使用前にボルテックスなどで溶解してお使い下さい。

〔使用回数〕

約 50 回（Invitek社キットを使用した場合）

〔使 用 法〕

1. 準 備

－20℃保存した RNA スタビライザーを取り出し、析出がある場合は、ボルテックスなどで完全に溶解した状態にして下さい。

2. 使用法

本シリカなどの核酸吸着担体を使ったフィルトレーション法による RNA 精製キットの洗浄工程に適用します。下記の使用例も参考にして、お手持ちの精製キットにご使用下さい。

- (1) 通常 2 工程ある洗浄工程の内、最初に使うカラム洗浄液* に、その 1/10 容量の RNA スタビライザー溶液を添加します。

(*) Invitex社Invisorb Spin Tissue RNA mini Kit の洗浄液 Wash Buffer R1
QIAGEN社RNeasy Mini Kit の洗浄液 Buffer RW1 など

洗浄液との混合液は保存できませんので、その時使用する量を必ず用時調製して下さい。

- (2) 試料 (RNA) を吸着させるまでの操作は、お手持ちのキット説明書に従って行って下さい。
- (3) 吸着後の最初の洗浄工程で、RNA スタビライザーを添加した洗浄液 (キット添付のプロトコルに記載の液量) をスピнкаラムに添加します。
- (4) 20 分間放置した後、お手持ちのキット説明書に記載の条件で遠心ろ過を行って下さい。
- (5) 2 度目の洗浄液には、RNA スタビライザーを添加せずにキット添付のプロトコルに従ってカラムの洗浄を行って下さい。

RNA 吸着後のカラム洗浄は、必ず 2 回 (RNA スタビライザーを添加した洗浄液による洗浄と、無添加の洗浄液による洗浄)、行って下さい。

- (6) 以降、溶出までの操作は、キット添付のプロトコルに従って行って下さい。

【使用例 - 1】 Invisorb Spin Tissue RNA Mini Kit (Invitex社 : Code No. 500-99923) に適用した場合 :

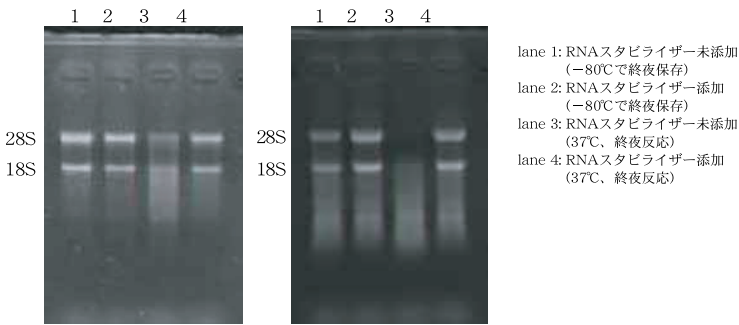
- (1) Wash Buffer R1 (500 μ L) に、RNA スタビライザーを 50 μ L 添加します。

この混合液では保存できませんので、その時使用する量を必ず用時調製して下さい。洗浄工程以外のステップに RNA スタビライザーを添加しても効果は認められません。本プロトコルに従って行ってください。

- (2) RNA スタビライザーを添加した Wash Buffer R1 を 500 μ L、spin filter に添加した後、20 分間放置します。
- (3) 10,000 rpm で 30 秒間、遠心ろ過を行います。
- (4) Wash Buffer R2 を使った 2 度目の洗浄以降の操作は、キット添付のプロトコルに従って行います。

【実施例データ-1】 マウス肝臓、すい臓からの Total RNA の抽出：

マウス肝臓およびすい臓から Total RNA を抽出した時の実施例を示します。精製した RNA 水溶液を、そのまま 37℃で終夜インキュベーションした後の電気泳動像です。



マウス肝臓 Total RNA マウスすい臓 Total RNA

同キットより精製された RNA が、全て上記のように分解、低分子化する品質のものではありませんが、非常に多くの RNase を含む検体から精製した場合、保存安定性が劣る RNA を取得する場合があります。その時に、RNA スタビライザーを上記方法に従って適用しますと、RNase が不可逆的に不活化され、図 1、2 のような保存安定性の優れた RNA を取得することができます。

関連製品

Code No.	品 名	容 量
500-99923	Invisorb™ Spin Tissue RNA Mini Kit	50 回用
508-99924	Invisorb™ Spin Tissue RNA Mini Kit	250 回用

製造発売元
富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪市中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741

2304KA2