

# RNAの準備-RNA抽出時の注意点

RNA抽出の指定の方法、キットはない。

<抽出キット例>

- ・ RNeasy Mini Kit (QIAGEN)
- ・ NucleoSpin(Takara bio)

- ▶ 組織の破碎はポリトロンやペッスルを推奨  
超音波破碎機で長時間処理するとRNAがせん断されます。  
➡ RNAが断片化
- ▶ RNA抽出時、DNase処理を実施。(ゲノムDNAを取り除く)  
残存DNAは逆転写酵素の基質となり、ライブラリー化されてしまう。  
➡ ゲノム配列が混入
- ▶ キャリアは使用しない。(RNAの収量を増やす目的で投入する添加物)  
グリコーゲン、ヘパリンは酵素活性を阻害します。  
yeast tRNAやpoly Aはライブラリーの基質となります。  
➡ ライブラリーができない  
余計な配列が混入
- ▶ miRNAを解析したい場合は、miRNAに対応しているキットを使用する。  
(Total RNAキット可)  
一般的なスピンカラムキットは200塩基未満のRNAを回収できない。  
miRNAの長さは20-25塩基程度しかない  
➡ miRNA ライブラリーができない
- ▶ 抽出したRNAは吸光度測定し、純度を確認しましょう。  
A260/A280Ration Value : ~2.0、A260/A230 : 2.0-2.2  
➡ ライブラリーができない
- ▶ 抽出したRNAはRIN値を測定し、断片化の程度を確認しましょう。  
(生物種によってはRIN値の測定不可)  
➡ 断片化の程度でライブラリーの  
の作り方が変わる