

## A. 準備

- gentleMACS Dissociator
- gentleMACS M Tube ストレイナー付き: 50本 130-094-392 または  
ストレイナーなし: 25本入り 130-093-236、50本入り 130-093-458
- $\mu$  MACS™ mRNA アイソレーションキット:  $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットスモールスケール20回用 (130-075-201)、 $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットスモールスケール10回用 (130-090-276)、 $\mu$  MACS mRNA スターティングキット (130-075-202)、 $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットラージスケール8回用 (130-075-101)、 $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットラージスケール4回用 (130-090-277)
- オプション: Antifoam Y-30 emulsion (Sigma-Aldrich, A6457)

## B. mRNA 抽出のための組織破碎

- このプロトコールにより、肝臓、肺、脳、脾臓、腎臓、心臓などのマウス組織からmRNAを単離できることが確認されています。
- マウスの尾、耳、皮膚、筋肉、すい臓など、繊維やRNaseの多いサンプルを扱う場合は、mRNA 抽出に先立って、total RNA の抽出を行ってください。Total RNA の抽出は、gentleMACS プロトコール“Total RNA 抽出のための組織破碎”をご覧ください。  
**Note:** M Tube が破損する恐れがあるため、骨など硬いサンプルからの抽出はできません。
- M Tube 1本につき 1mL または 5mL のサンプルを処理できます。詳しくは  $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットのデータシートをご覧ください。
- RNA は分解されやすいので、すばやくサンプルを Lysis / Binding buffer で溶解することをお勧めします。
- 凍結サンプルの場合、溶解する前にサンプルを融解するのはお避けください。
- gentleMACS Dissociator の使用方法はユーザーマニュアルをご参照ください。

サンプルにあわせてプログラムを選ぶ。  
フレッシュな組織: gentleMACS program RNA\_01  
凍結組織: gentleMACS program RNA\_02



$\mu$  MACS mRNA アイソレーションキットのLysis/Binding  
バッファーを室温にしておく。



終濃度0.5% となるように Antifoam Y-30 emulsionを  
Lysis/Binding バッファーに加え、ホモジナイズ中に泡が立  
たないようにする。



M Tube に Lysis/Binding バッファー0.5% Antifoam 入り  
を移す: スモールスケールキットの場合 1 mL、ラージス  
ケールキットの場合 5 mL。

\* 詳しくは、 $\mu$  MACS mRNA アイソレーションキット  
のデータシートをご覧ください。



M Tube に組織片を入れ、しっかりふたを閉める。

\* チューブの壁にサンプルがつかないように直接  
lysis buffer に入れてください。





M Tube を gentleMACS Dissociator にセットする。サンプルが rotor / stator にのっていることを確認する。



使用した組織に応じて以下のいずれかのプログラムをスタートさせる。  
フレッシュな組織: gentleMACS program **RNA\_01**  
凍結組織: gentleMACS program **RNA\_02**



プログラム終了後、M Tube を 2000 x g 1分 遠心する。



チューブからサンプルを取り出し、 $\mu$ MACS mRNA アイソレーションキット のデータシートに従って引き続きmRNAの抽出を行う。

**NOTE** : ART 1000 REACH ピペットチップまたはそれと同等のものなら、M Tube のキャップ中央にあるシリコン部分にピペットを挿しこむことができ、閉鎖された状態で中身を回収できます。