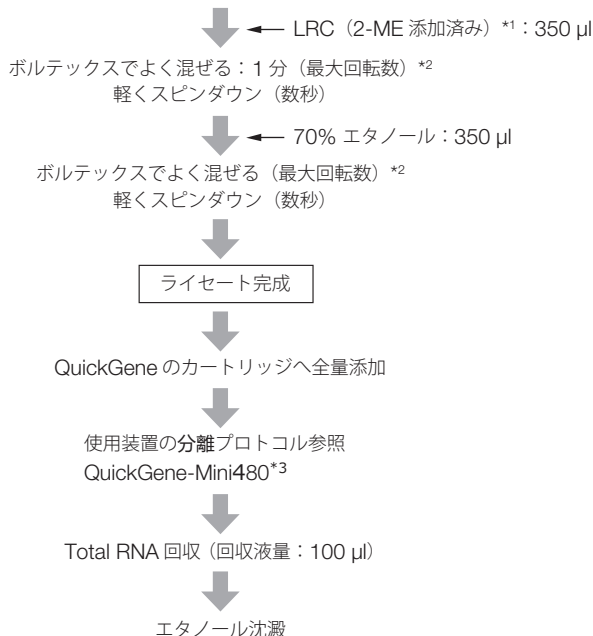


**RH-9**

# サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染細胞からの total RNA分離

## プロトコル

細胞を 1.5 ml マイクロチューブに入れ、ペレット化する (1.5 ml チューブ中の $\sim 1 \times 10^6$  個の細胞)



\*1 1 ml の LRC 当たり 10  $\mu$ l の 2-ME を加える。

\*2 最大回転数ボルテックスで完全に混合してください。ボルテックスで混合不十分ならば、タッピング、ピペッティングあるいは転倒を使用してください。

\*3 本事例は旧機種で取得したデータも含まれます。その他 QuickGene シリーズでもこのプロトコルをご参考頂けます。

## 結果

### 電気泳動図

データなし

### ウイルス RNA の収量 ( $\mu$ g)

ウイルス	実験 1			実験 2			
	mock	SIV clone 1	SIV clone 2	mock		SIV clone 2	
QuickGene-810	5.6	3.8	7.0	8.0	3.6	6.0	9.5
スピнкаラム	-	-	-	7.1	0.8	4.5	4.7

### タンパク質の混入 : A260/280

ウイルス	実験 1			実験 2			
	mock	SIV clone 1	SIV clone 2	mock		SIV clone 2	
QuickGene-810	1.86	1.82	1.84	1.90	1.86	1.77	1.91
スピнкаラム	-	-	-	1.92	1.66	1.82	1.88

### カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

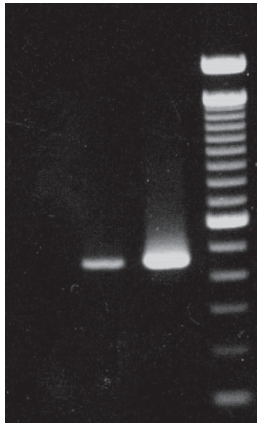
## ■ その他

## ● RT-PCR

SIV clone 1 あるいは SIV clone 2 感染細胞から分離した SIV-RNA 使用の RT-PCR の AGE

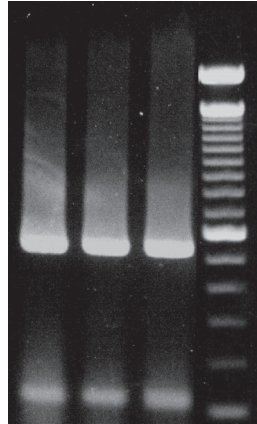
実験 1 : SIV clone 1 あるいは SIV clone 2 感染細胞からの SIV-RNA 検出

mock clone1 clone2



env  
458bp

mock clone1 clone2



GAPDH  
588bp

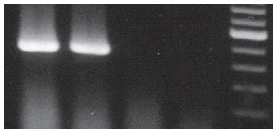
1  $\mu$ g の分離 total RNA を使用して RT-PCR を行った。

Total RNA を用いて RT-PCR 増幅に成功した。

SIV clone 2 には SIV clone 1 よりも高い伝染性があるので、より多量の SIV-RNA が SIV clone 2 感染細胞から分離できる。

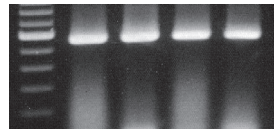
実験 2 : QuickGene-810 とスピнкаラムの比較

SIVclone2    mock  
F    A    F    A



env  
458bp

SIVclone2    mock  
F    A    F    A



GAPDH  
588bp

F : QuickGene-810

A : スピнкаラム

env および GAPDH 遺伝子増幅のための RT-PCR テンプレートに、分離した S2V-RNA を用いた。

## ■ 共通プロトコルサンプル

データなし