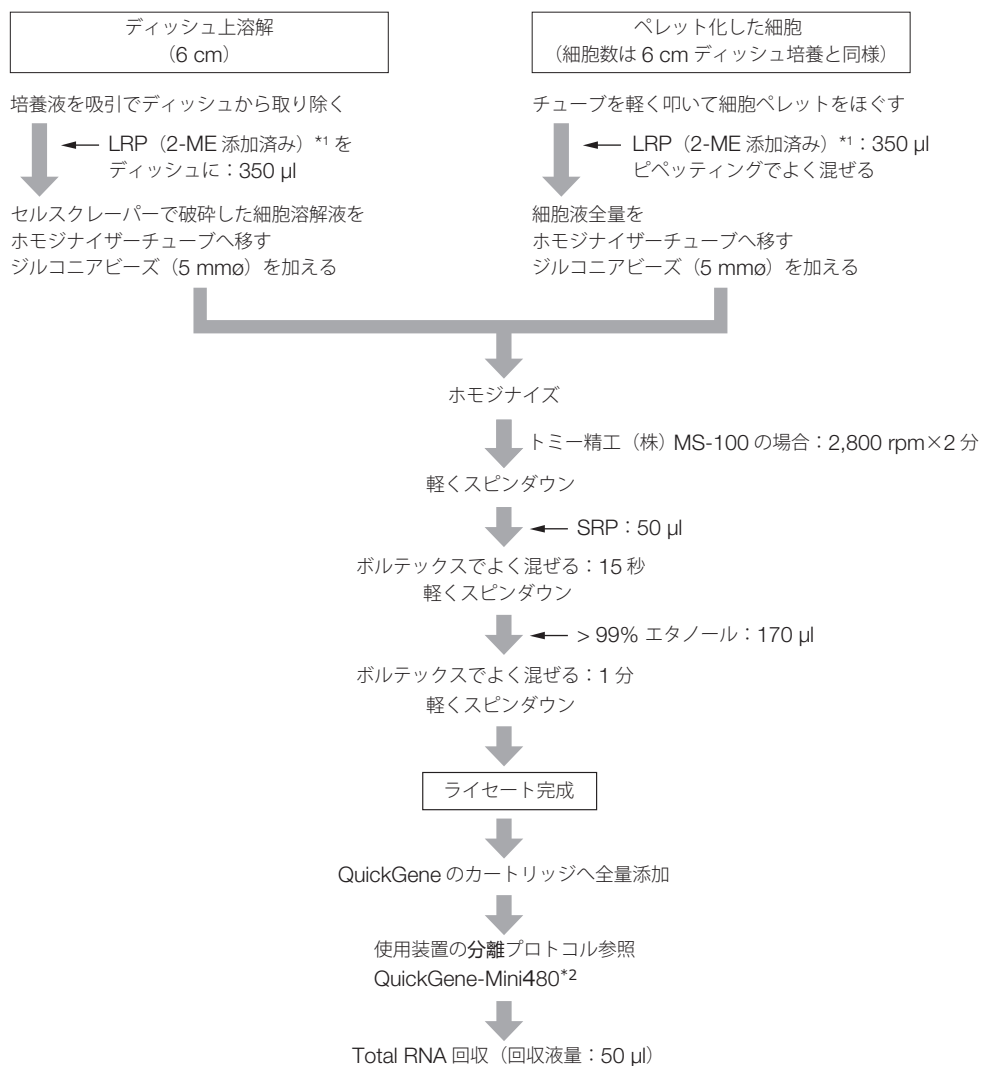


## HeLa 培養細胞からのtotal RNA分離(6 cmあるいは10 cmディッシュ)

## | プロトコル A



\*1 2-メルカプトエタノール (2-ME) を使用前毎に必ずLRPに加えてください。  
1 ml のLRP 当たり 10 μl の 2-ME を加える。

\*2 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

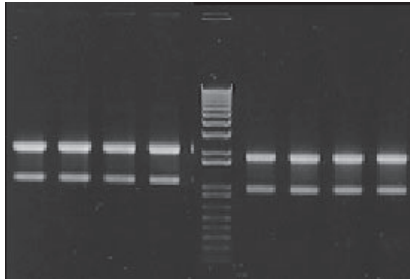
接着細胞を直接 6 cm ディッシュで溶解するか、あるいはペレット化した浮遊細胞を溶解して total RNA を分離した。

### 電気泳動図

非変性ゲル電気泳動 (1% アガロース / 1 × TAE 緩衝液)

HeLa (2 × 10<sup>6</sup> 個の細胞)

QuickGene                      スピнкаラム法 (A社)  
DNase (+) DNase (-)    M    DNase (+) DNase (-)



M : マーカー (1Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)

### Total RNA の収量

| 細胞株  | 細胞数<br>(× 10 <sup>6</sup> ) | 収量 (μg)   |               |
|------|-----------------------------|-----------|---------------|
|      |                             | QuickGene | スピнкаラム法 (A社) |
| HeLa | 2.0                         | 47.2      | 46.1          |

### タンパク質の混入 : A260/280

データなし

### カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

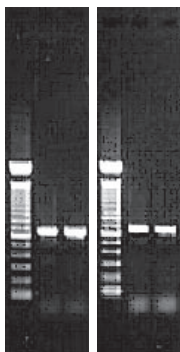
### その他

#### ● RT-PCR (DNase 処理あり)

QuickGene システムおよびスピнкаラム法 (A社) を用いて分離した total RNA (10pg/μl あるいは 1pg/μl) 中の β -actin mRNA をテンプレートとして RT-PCR を行った。

HeLa (6 cm ディッシュ)

10pg/μl    1pg/μl  
M 1 2    M 1 2



M : マーカー (100bp DNA Ladder : Invitrogen)

1 : QuickGene

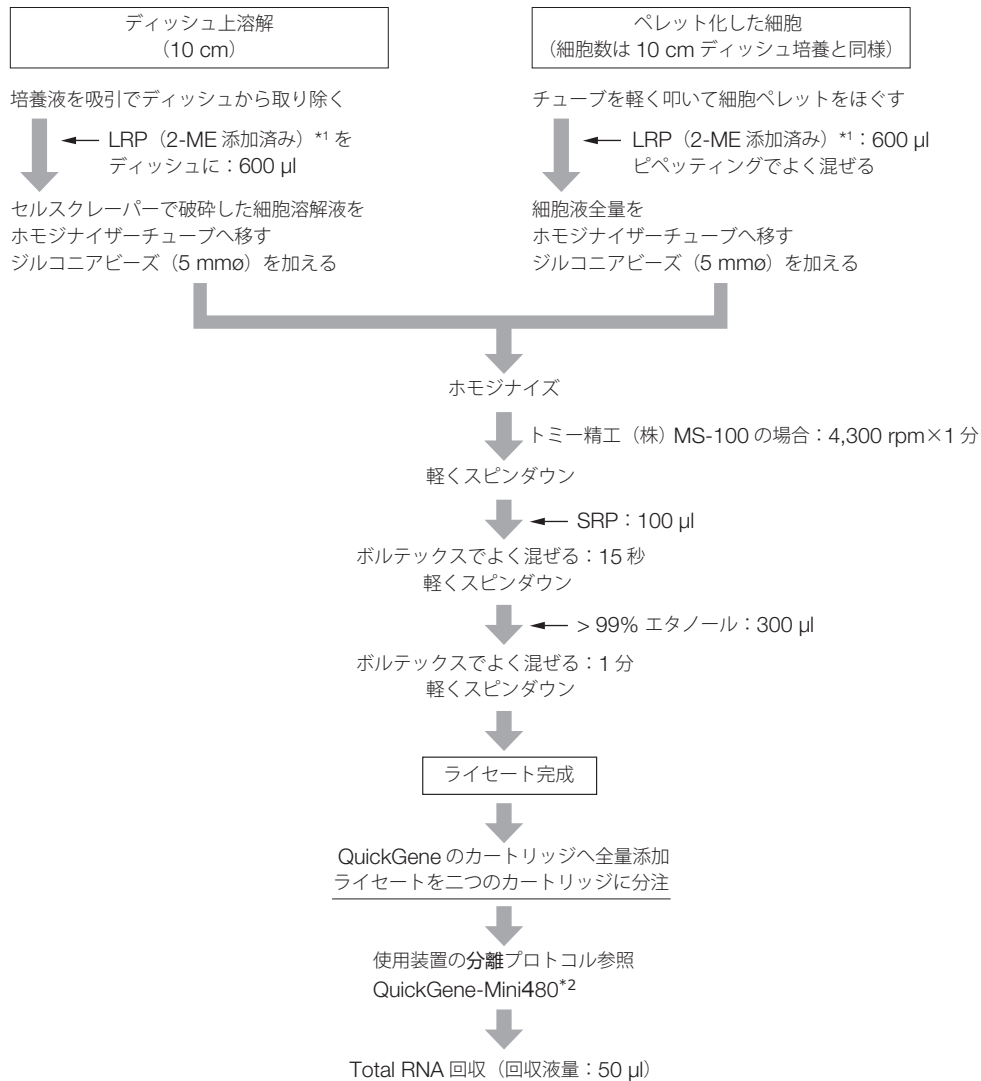
2 : スピнкаラム法 (A社)

N : ネガティブコントロール

## 共通プロトコルサンプル

培養 HEK293 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)、培養 COS-7 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)、培養 NIH/3T3 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)

## プロトコル B



\*1 2-メルカプトエタノール (2-ME) を使用前毎に必ず LRP に加えてください。  
1 ml の LRP 当たり 10 µl の 2-ME を加える。

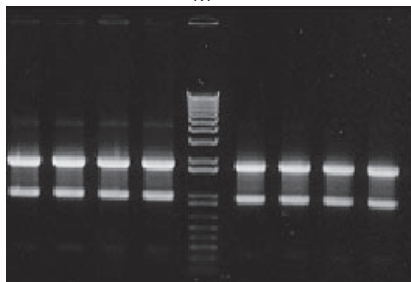
\*2 本事例は旧機種で取得したデータも含まれます。  
その他 QuickGene シリーズでもこのプロトコルをご参考頂けます。

## 結果

接着細胞を直接 10 cm ディッシュで溶解するか、あるいはペレット化した浮遊細胞を溶解して total RNA を分離した。

### 電気泳動図

非変性ゲル電気泳動 (1% アガロース / 1 × TAE 緩衝液)  
 HeLa (10 cm ディッシュ)  
 QuickGene                      スピнкаラム法 (A 社)  
 DNase (+) DNase (-)    M    DNase (+) DNase (-)



M : マーカー (1Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)

### Total RNA の収量

| 細胞株  | 細胞数<br>( $\times 10^6$ ) | 収量 ( $\mu\text{g}$ ) |          |           |          |
|------|--------------------------|----------------------|----------|-----------|----------|
|      |                          | DNase (+)            |          | DNase (-) |          |
|      |                          | QuickGene            | スピнкаラム法 | QuickGene | スピнкаラム法 |
| HeLa | 5.0                      | 129.0                | 115.7    | 122.0     | 104.0    |

### タンパク質の混入：A260/280

| 細胞株  | 細胞数<br>( $\times 10^6$ ) | A260/280  |          |           |          |
|------|--------------------------|-----------|----------|-----------|----------|
|      |                          | DNase (+) |          | DNase (-) |          |
|      |                          | QuickGene | スピнкаラム法 | QuickGene | スピнкаラム法 |
| HeLa | 5.0                      | 2.20      | 1.99     | 2.20      | 2.02     |

QuickGene システムを用いることで、タンパク質の混入の少ない高純度の total RNA 分離ができた。

### カオトロピック塩の混入：A260/230

| 細胞株  | 細胞数<br>( $\times 10^6$ ) | A260/230  |          |           |          |
|------|--------------------------|-----------|----------|-----------|----------|
|      |                          | DNase (+) |          | DNase (-) |          |
|      |                          | QuickGene | スピнкаラム法 | QuickGene | スピнкаラム法 |
| HeLa | 5.0                      | 2.18      | 2.10     | 2.05      | 2.12     |

QuickGene システムを用いることで、カオトロピック塩の混入の少ない高純度の total RNA 分離ができた。

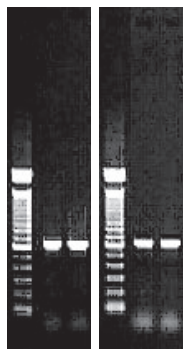
### その他

#### ● RT-PCR

QuickGene システムおよびスピнкаラム法 (A 社) を用いて分離した total RNA (10pg/ $\mu\text{l}$  or 1pg/ $\mu\text{l}$ ) 中の  $\beta$ -actin mRNA をテンプレートにして RT-PCR を行った。

HeLa (10 cm ディッシュ)

10pg/ $\mu\text{l}$     1pg/ $\mu\text{l}$   
M 1 2    M 1 2



M：マーカー (100bp DNA Ladder : Invitrogen)

1：QuickGene

2：スピнкаラム法 (A 社)

N：ネガティブコントロール

### 共通プロトコルサンプル

培養 HEK293 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)、培養 COS-7 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)、培養 NIH/3T3 細胞 (6 cm あるいは 10 cm ディッシュ)