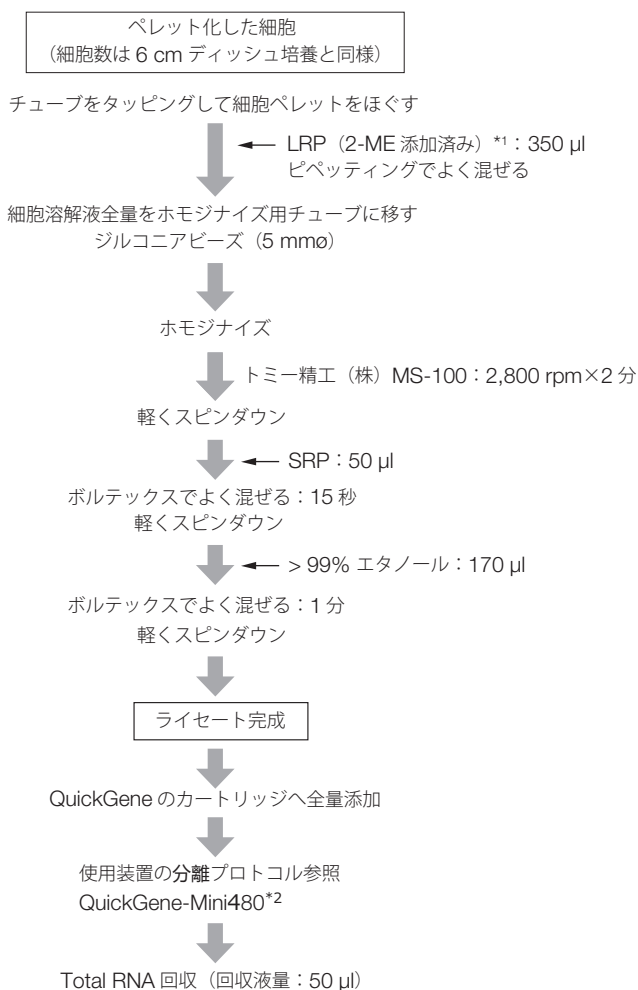


RG-14

HL60 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6 cm ディッシュで直接溶解するか、あるいはペレット化した浮遊細胞を溶解させて total RNA を分離した。

### 電気泳動図

データなし

### Total RNA の収量 (DNase 処理あり)

細胞株	細胞数 ( $\times 10^6$ )	収量 ( $\mu\text{g}$ )	
		QuickGene	スピнкаラム法 (A社)
HL60	5.0	33.1	46.2

### 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

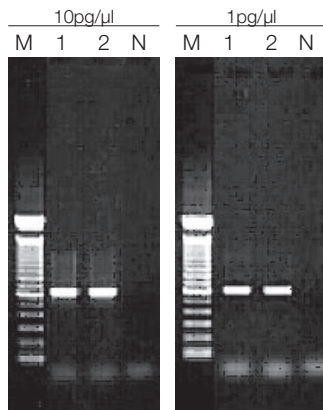
データなし

### 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 ( $10\text{pg}/\mu\text{l}$  or  $1\text{pg}/\mu\text{l}$ ) 中の  $\beta$ -actin mRNA をテンプレートにして RT-PCR を行った。

HL60 ( $5 \times 10^6$  個の細胞)



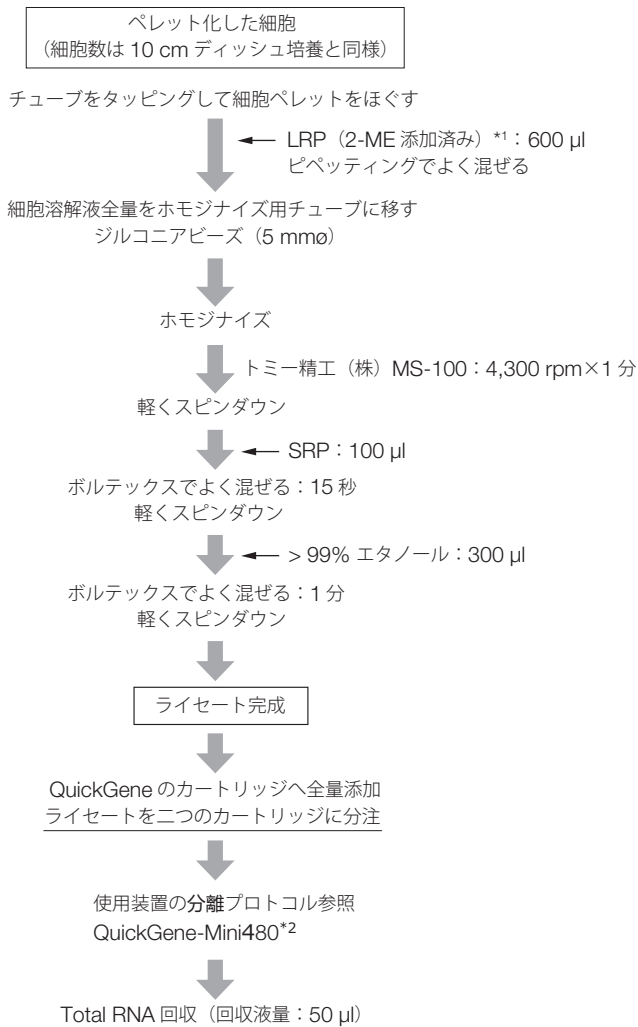
M：マーカー (100bp DNA Ladder : Invitrogen)  
1：QuickGene  
2：スピнкаラム法 (A社)  
N：ネガティブコントロール

Total RNA ( $1\text{pg}/\mu\text{l}$ ) で行った RT-PCR に対して、増幅産物のバンドに似たバンドが両方のキットで検出された。

## 共通プロトコルサンプル

データなし

## 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 10 cm ディッシュで直接溶解するか、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

データなし

### Total RNA の収量

細胞株	細胞数 ( $\times 10^6$ )	収量 ( $\mu\text{g}$ )			
		DNase (+)		DNase (-)	
		QuickGene	スピнкаラム法	QuickGene	スピнкаラム法
HL60	15.0	167.3	154.4	144.4	140.5

QuickGene システムを用いて、マイクロアレイ、ノーザンプロットングなどに必要な量の total RNA が得られた。

### タンパク質の混入：A260/280

細胞株	細胞数 ( $\times 10^6$ )	A260/280			
		DNase (+)		DNase (-)	
		QuickGene	スピнкаラム法	QuickGene	スピнкаラム法
HL60	15.0	1.92	1.85	2.18	2.09

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 ( $\times 10^6$ )	A260/230			
		DNase (+)		DNase (-)	
		QuickGene	スピнкаラム法	QuickGene	スピнкаラム法
HL60	15.0	2.17	2.15	2.18	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。

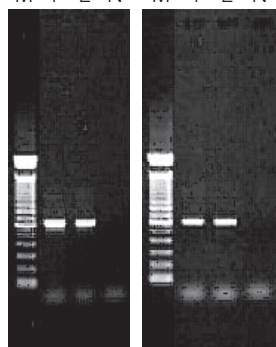
### その他

#### • 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 ( $10\text{pg}/\mu\text{l}$  あるいは  $1\text{pg}/\mu\text{l}$ ) 中の  $\beta$ -actin mRNA をテンプレートとして RT-PCR を行った。

HL60 ( $15 \times 10^6$  個の細胞)

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



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

Total RNA ( $1\text{pg}/\mu\text{l}$ ) で行った RT-PCR に対して、増幅産物のバンドに似たバンドが両方のキットで検出された。

## 共通プロトコルサンプル

データなし