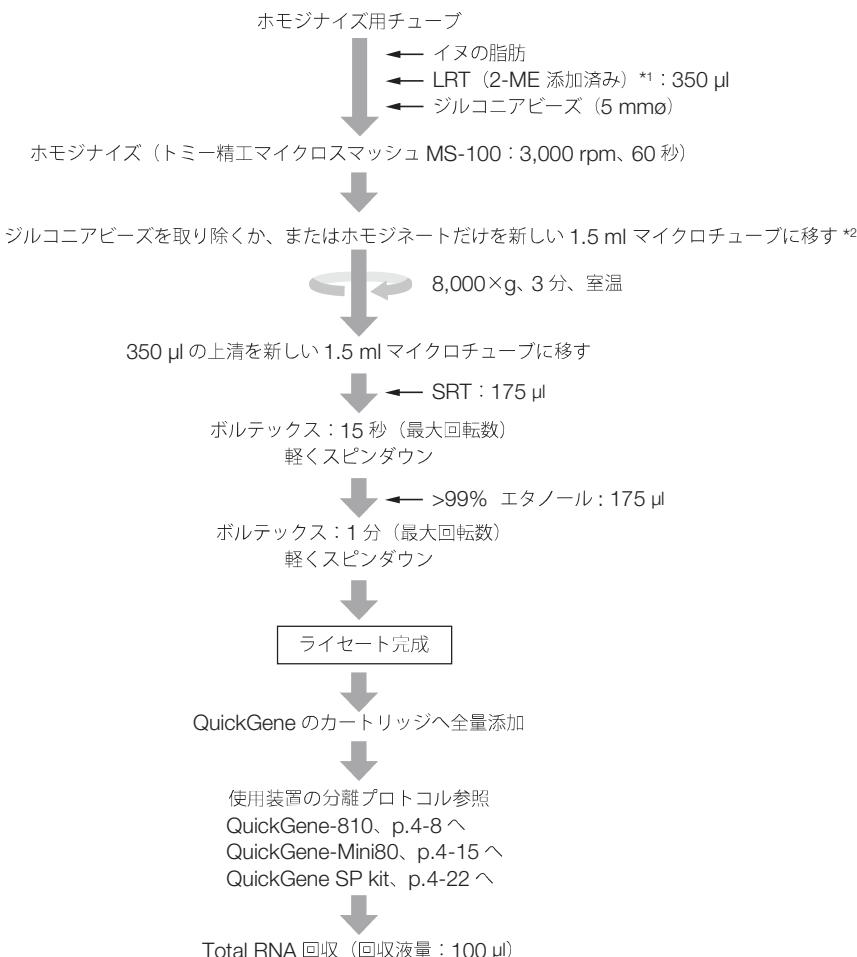


3-XI-ii 章

動物組織からの total RNA 分離

イヌの脂肪組織からの total RNA 分離

プロトコル



結果

イヌあるいはネコの脂肪組織から total RNA を分離した。

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | QuickGene (μg) | 競合 A 社キット (μg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 0.5 | 0.8 |
| 100 mg | 2.3 | - |
| 200 mg | 4.6 | 4.2 |
| 400 mg | 28.0 | - |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織の量 | QuickGene (μg) | 競合 A 社キット (μg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 1.88 | 1.58 |
| 100 mg | 2.12 | - |
| 200 mg | 2.16 | 2.17 |
| 400 mg | 2.00 | - |

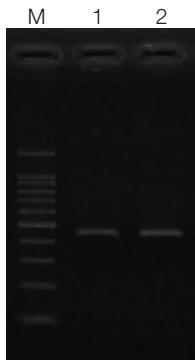
■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

- RT-PCR

QuickGene システムを用いて、イヌやネコの脂肪組織から分離された total RNA に対して、イヌ PPAR gamma (695-1130) あるいはネコ PPAR gamma (695-1130) に対する RT-PCR 増幅を ReverTra Ace (TOYOB0) を用いて行った。



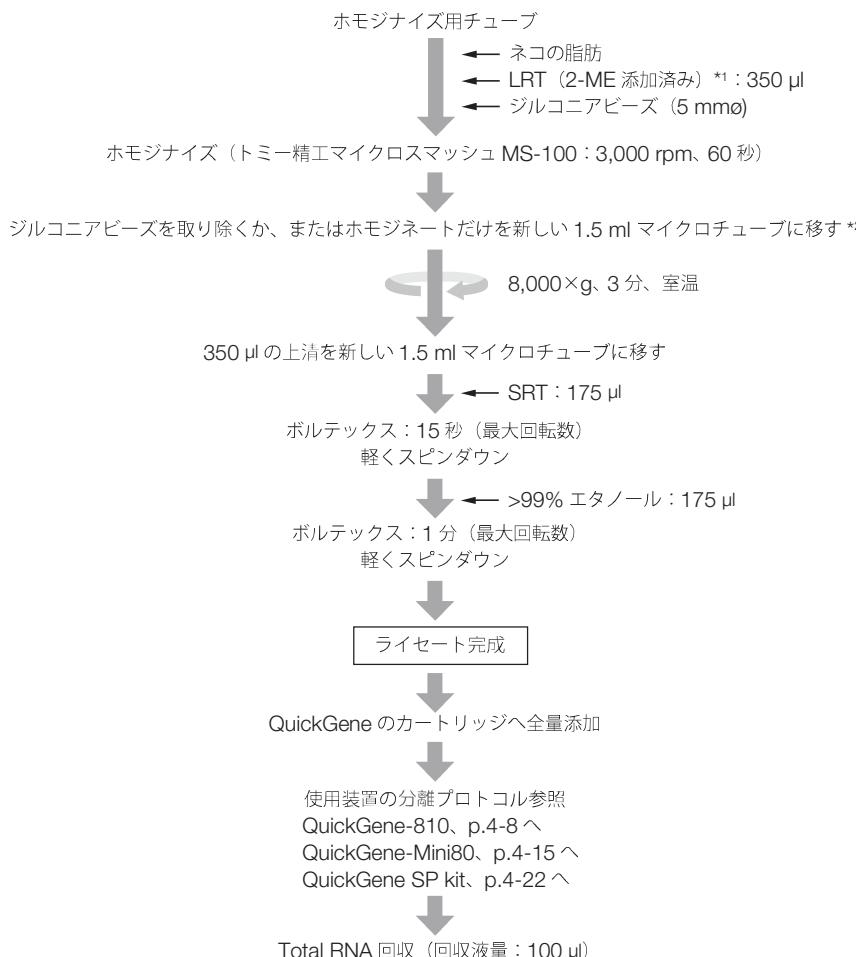
M : マーカー (100 bp DNA Ladder : TOYOB0)
1 : イヌ PPAR gamma (695-1130)
2 : ネコ PPAR gamma (695-1130)

■ 共通プロトコルサンプル

イヌの皮膚、ネコの脂肪組織

ネコの脂肪組織からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を添加してください。

*2 遠心後、脂質を避けてホモジネート上清を取りやすくするため。

結果

イヌあるいはネコの脂肪組織から total RNA を分離した。

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 0.5 | 0.8 |
| 100 mg | 2.3 | - |
| 200 mg | 4.6 | 4.2 |
| 400 mg | 28.0 | - |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 1.88 | 1.58 |
| 100 mg | 2.12 | - |
| 200 mg | 2.16 | 2.17 |
| 400 mg | 2.00 | - |

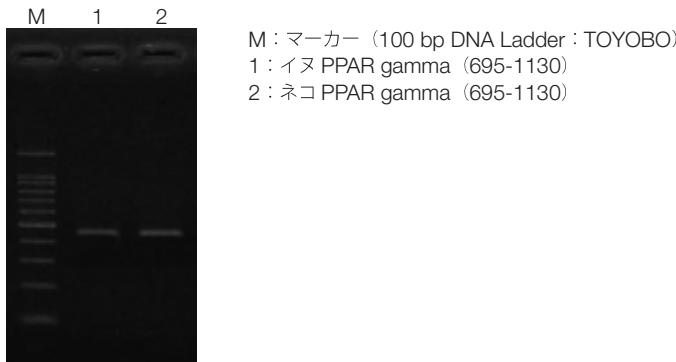
■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

- RT-PCR

QuickGene システムを用いて、イヌやネコの脂肪組織から分離された total RNA に対して、イヌ PPAR gamma (695-1130) あるいはネコ PPAR gamma (695-1130) に対する RT-PCR 増幅を ReverTra Ace (TOYOBO) を用いて行った。



■ 共通プロトコルサンプル

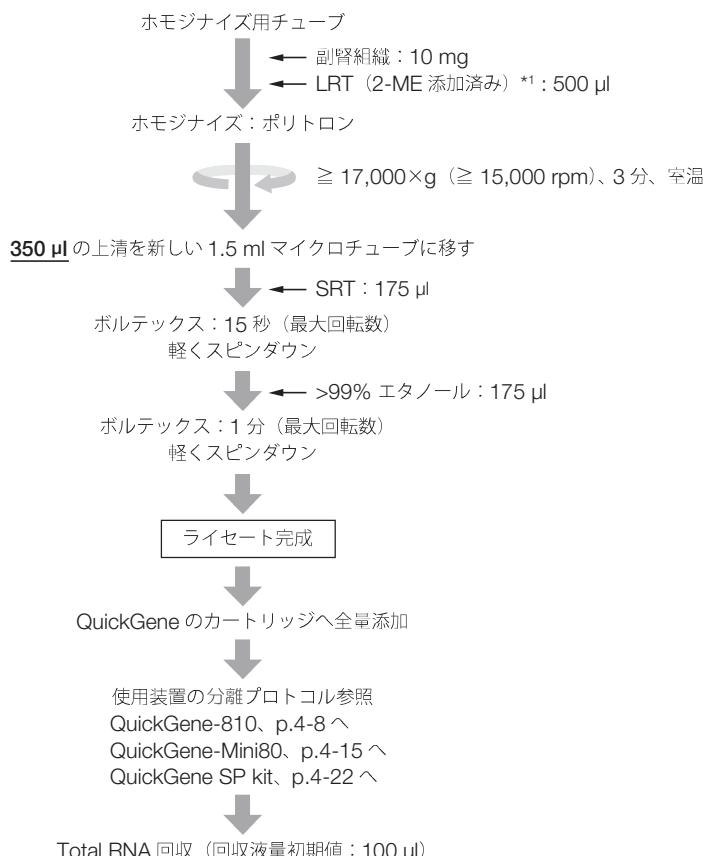
イヌの皮膚、イヌの脂肪組織

RA-b-3

 QuickGene RNA tissue kit S II (RT-S2)
 QuickGene SP kit RNA tissue (SP-RT)

マウスの副腎からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 副腎の量 | 収量 (μg) |
|---------|---------|
| 約 10 mg | 1.0 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 副腎の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 約 10 mg | 1.5 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

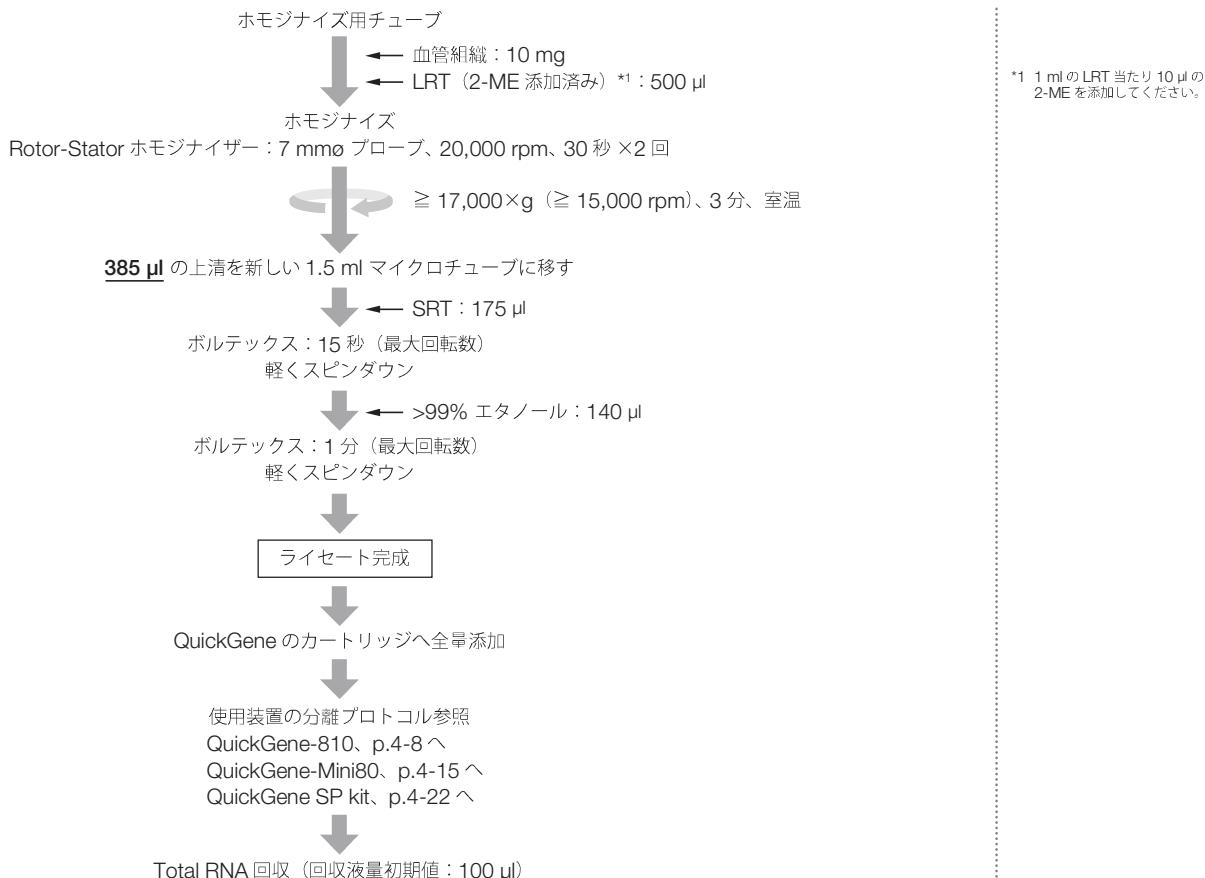
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ウサギの血管からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 血管の量 | 収量 (μg) |
|-------|---------|
| 10 mg | 1.0 |

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

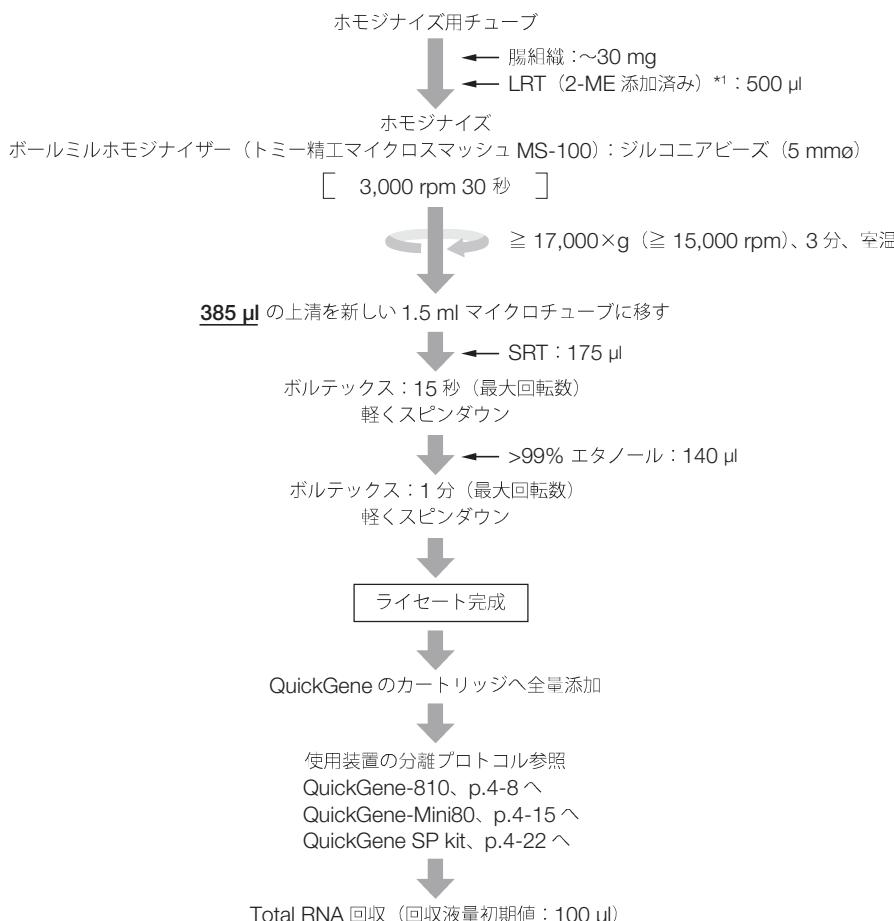
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ネコの腸からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を 添加してください。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 腸の量 | 収量 (µg) |
|-------|---------|
| 30 mg | 13.8 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 腸の量 | A260/280 |
|-------|----------|
| 30 mg | 1.78 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

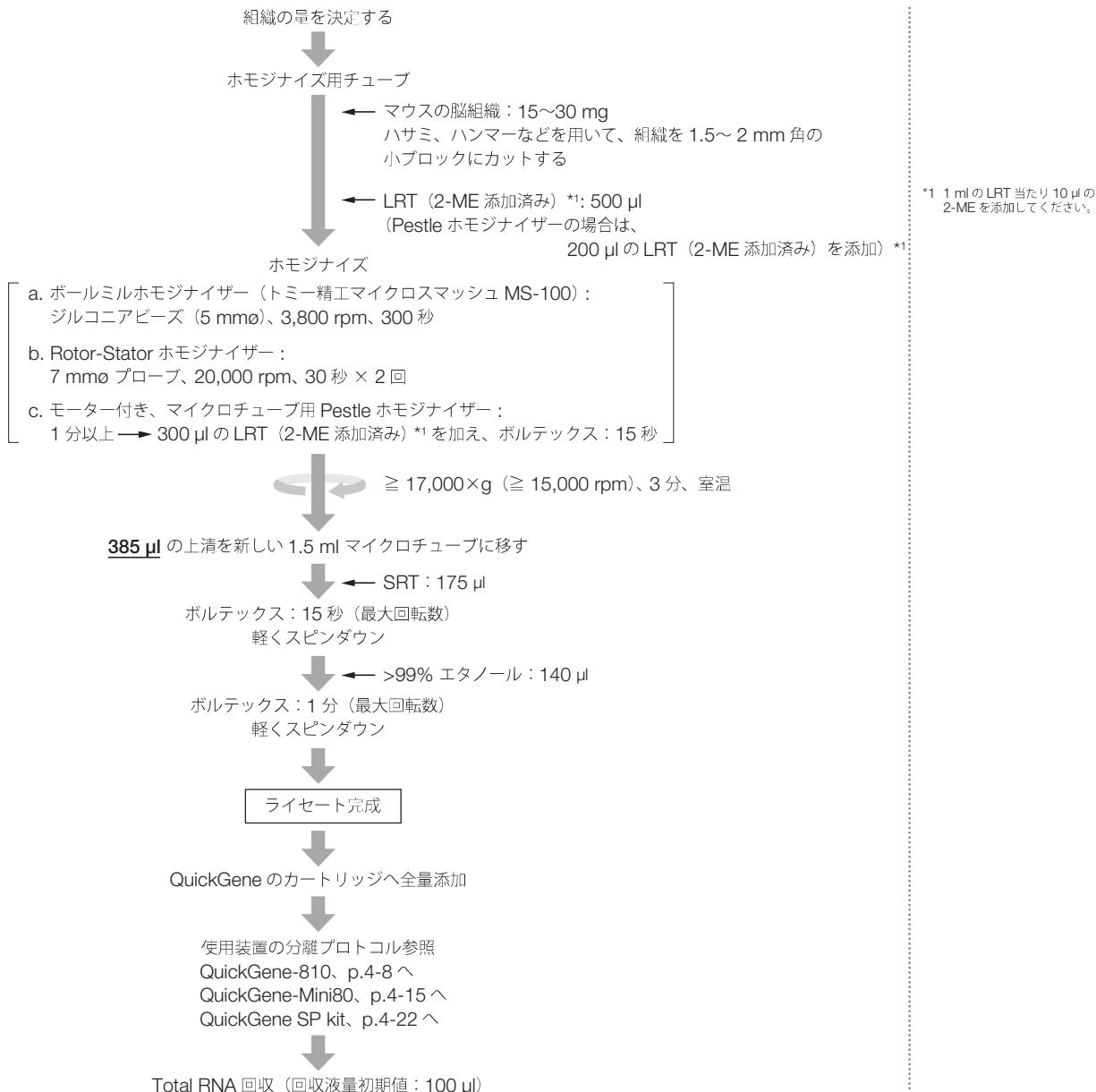
データなし

共通プロトコルサンプル

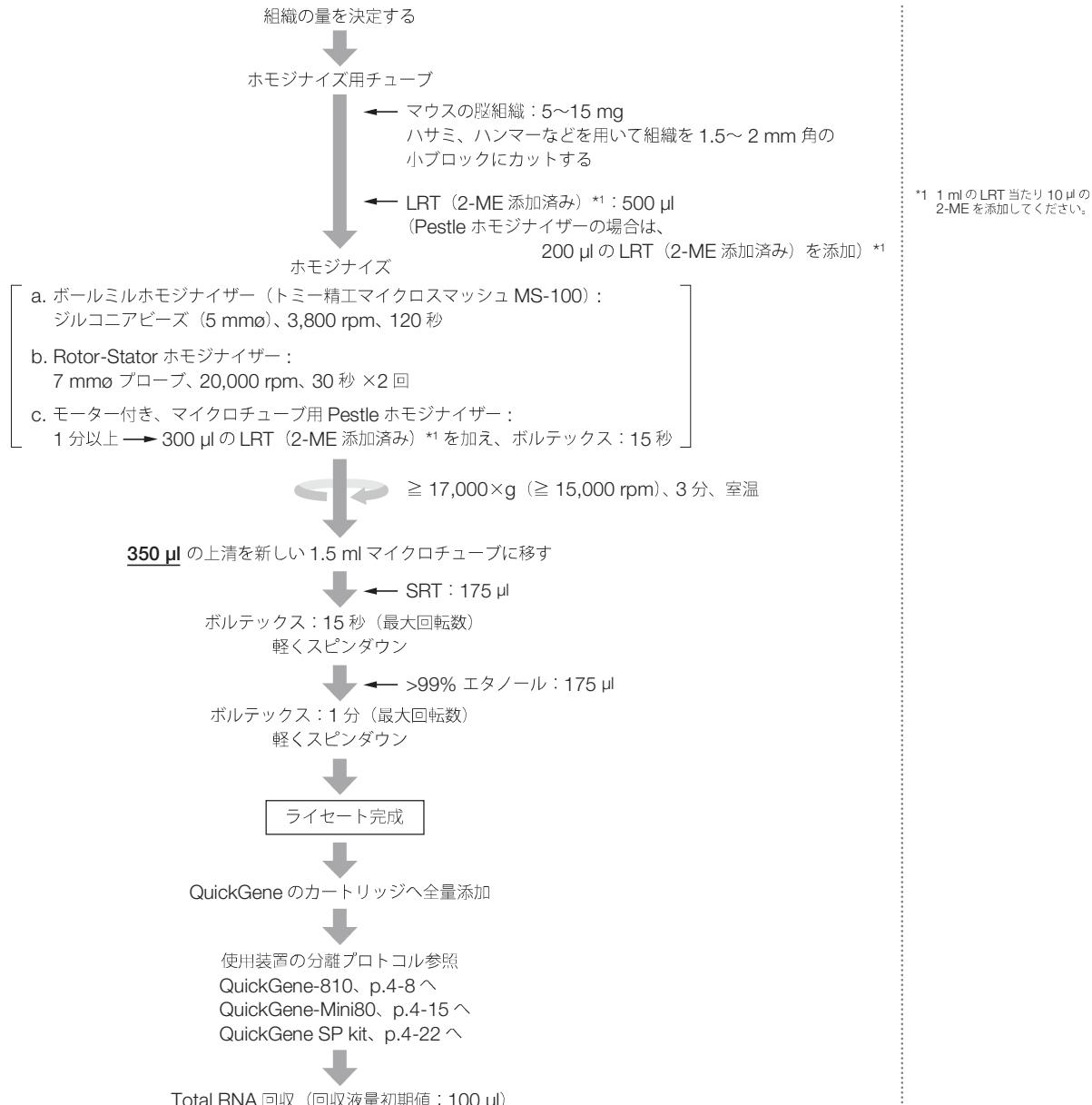
データなし

マウスの脳からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

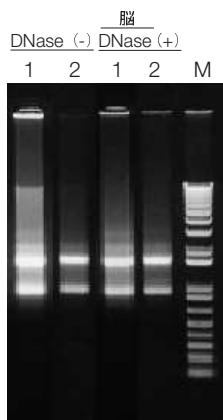


①この本に含まれるプロトコルには実績はありますが確立されていないプロトコルも含まれています。サンプルの種類・保存条件などによっては分離できない場合もあります。データに関しては保障しておりません。
②分離した核酸には目的以外の核酸（例：DNA 分離にはRNA）が含まれています。

結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザーを用いて）と競合 A 社キット（スピンドカラム法を用いて）、マウス脳組織から分離された total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。



M : マーカー (1 kb PLUS DNA Ladder : Invitrogen)

1 : QuickGene (MS-100 を用いて)

2 : 競合 A 社キット (スピンドカラム法)

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 21 µg | 21 µg | 40 mg | 20 µg | 21 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 2.11 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 2.11 | 1.95 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザーを用いて）と競合 A 社キット（スピンドカラム法）を用いて分離された total RNA に対して RT-PCR を行った。

< 室温反応条件 >

テンプレート : マウス脳からの Total RNA (DNase 処理あり) 500 ng
酵素 : SuperScript II (Invitrogen)

< PCR 条件 >

テンプレート : Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA
プライマー : G3PDH プライマー
酵素 : Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



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

1 : QuickGene

2 : 競合 A 社キット (スピンドカラム法)

共通プロトコルサンプル

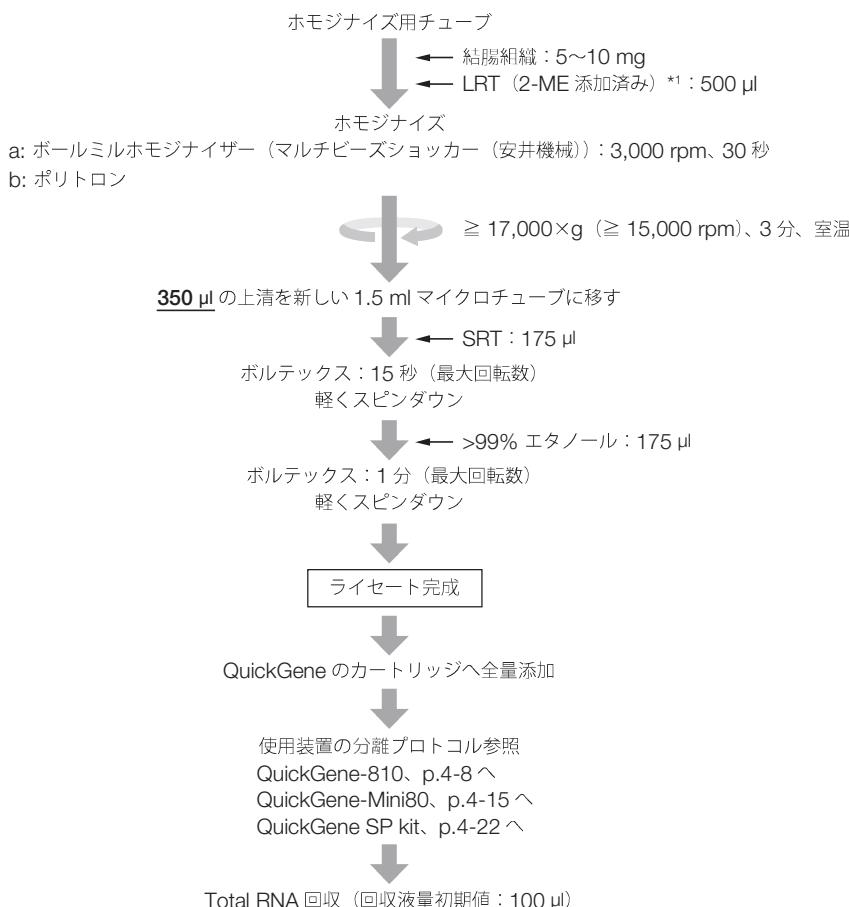
マウス精巣、マウス肝臓、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

RA-b-7

 QuickGene RNA tissue kit S II (RT-S2)
 QuickGene SP kit RNA tissue (SP-RT)

マウスの結腸からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を添加してください。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 結腸の量 | 収量 (µg) |
|-------------|---------|
| a : 約 5 mg | 約 8.0 |
| b : 約 10 mg | 3.0 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 結腸の量 | A260/280 |
|-------------|----------|
| b : 約 10 mg | 2.7 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

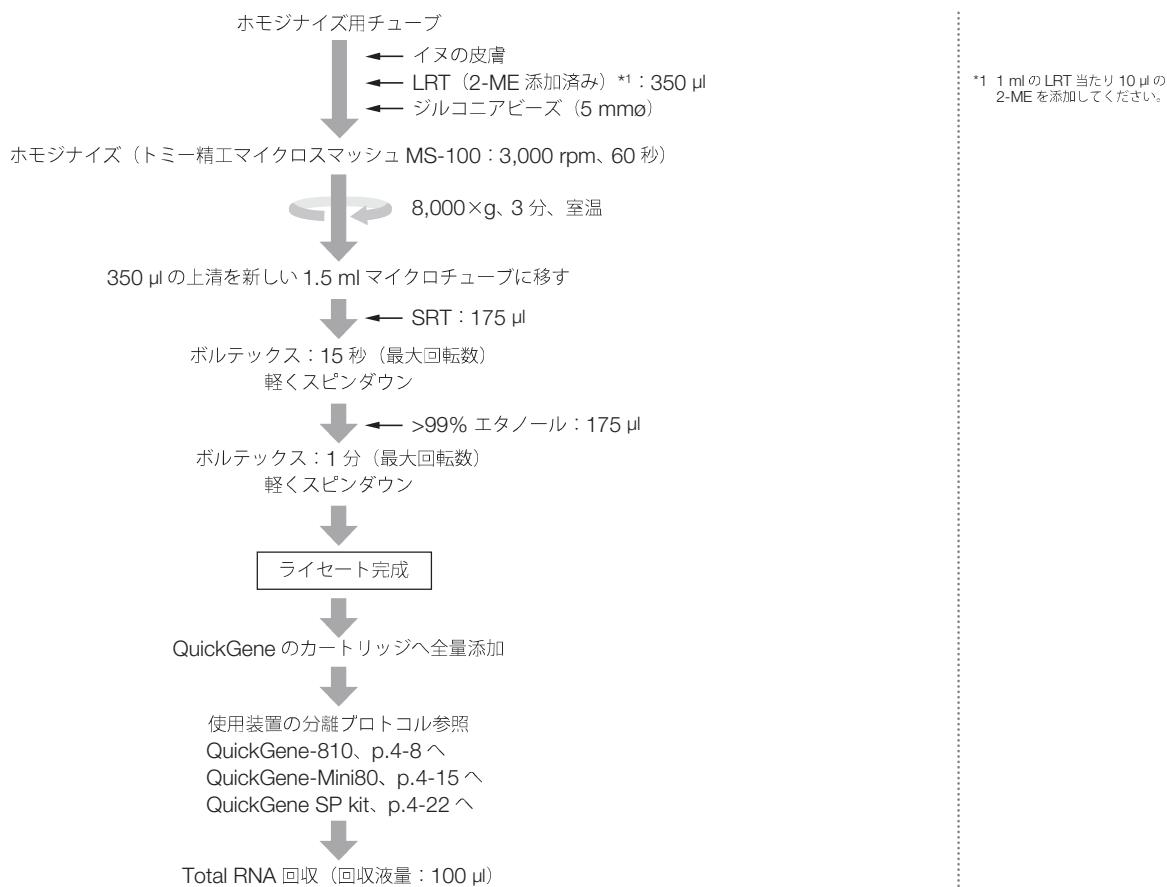
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

イヌの皮膚からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | 収量 (µg) | |
|-------------------|-----------|-----------|
| | QuickGene | 競合 A 社キット |
| 1 mm ² | 検出限界以下 | 検出限界以下 |

タンパク質の混入 : A260/280

データなし

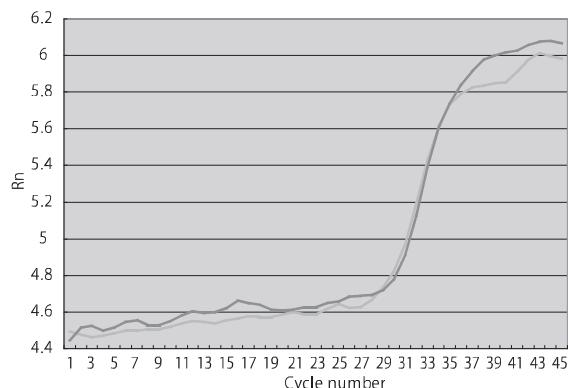
カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

• ワンステップ リアルタイム RT-PCR

イヌの皮膚から分離した total RNA で、QuantiTect プローブ RT-PCR キット (QIAGEN) と ABI PRISM7000 Sequence Detection system (Applied Biosystems) を使用してワンステップ リアルタイム RT-PCR を行い、GAPDH を増幅した。



Total RNA の収量は、吸光光度計での測定では検出限界以下であったが、ワンステップ リアルタイム RT-PCR は非常に良好な結果を示した。

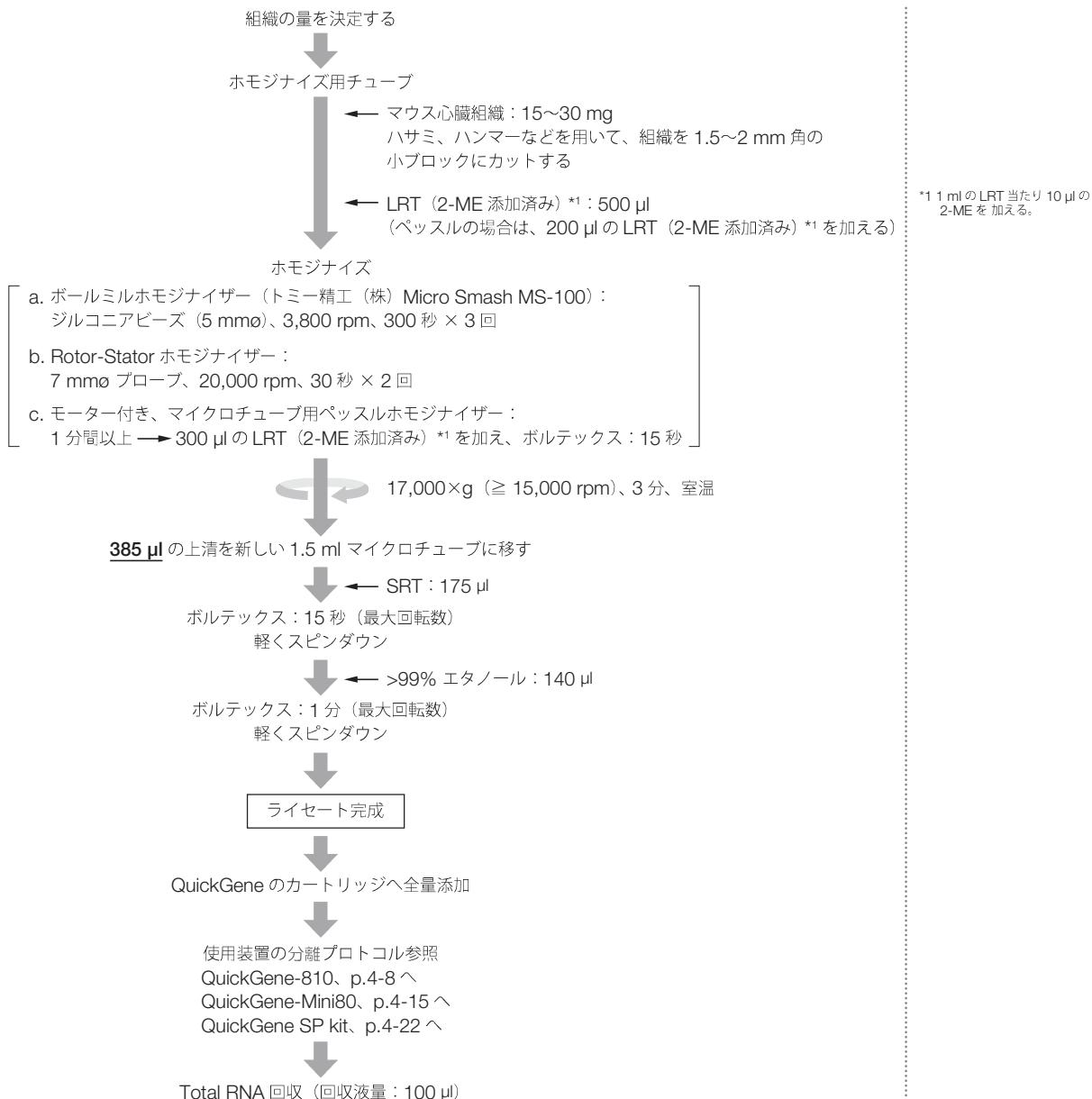
* 両方とも QuickGene システムで分離した total RNA に対するデータである。

■ 共通プロトコルサンプル

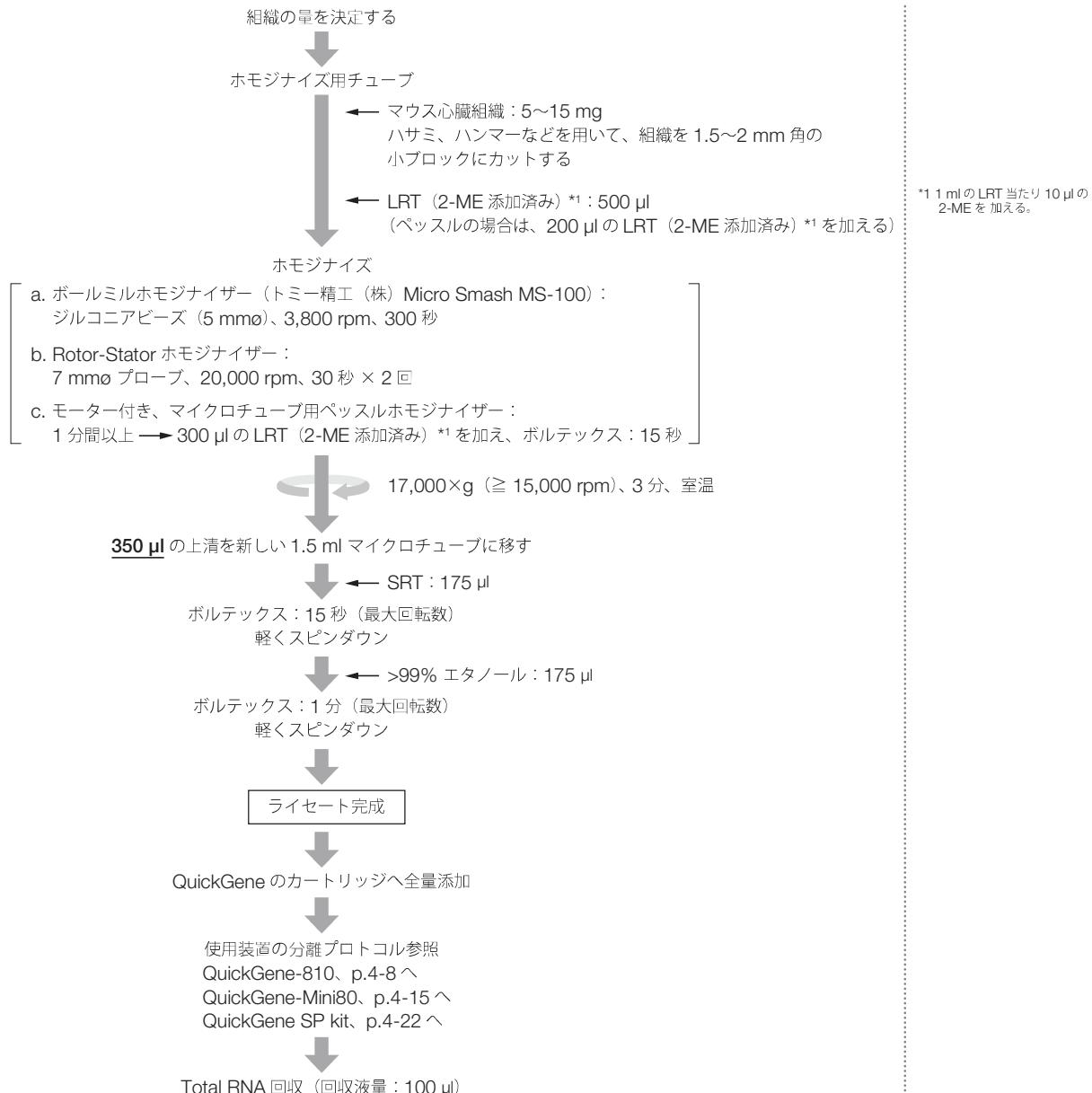
ネコの脂肪組織、イヌの脂肪組織

マウス心臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

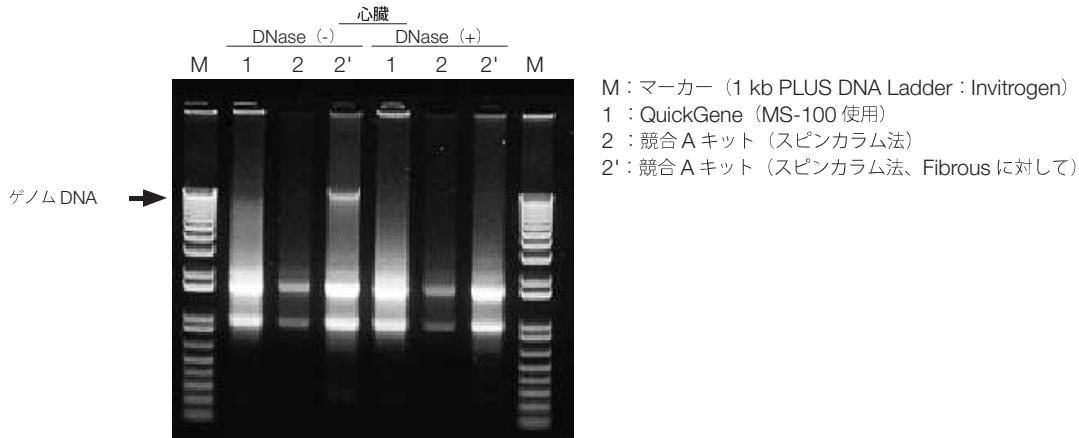


結果

電気泳動図

Total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



心臓に対して、競合 A 社キット（スピニカラム法）の場合よりもゲノム DNA 混入の少ない total RNA 分離が QuickGene システムで可能である。

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 21 µg | 23 µg | 5 mg | 4 µg | 4 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 2.37 | 2.33 |

(ボールミルホモジナイザー使用)

カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 2.18 | 2.16 |

(ボールミルホモジナイザー使用)

その他

- RT-PCR

Total RNA で、RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート : マウス心臓からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng

酵素 : SuperScript II (Invitrogen)

< PCR 条件 >

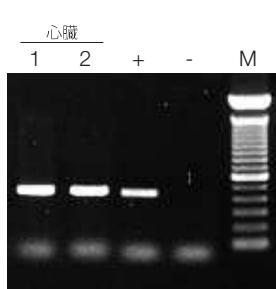
テンプレート : Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA

プライマー : G3PDH プライマー

酵素 : Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



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

1 : QuickGene

2 : 競合 A キット (スピニカラム法)

+ : ポジティブコントロール (mLiver RNA : Clontech)

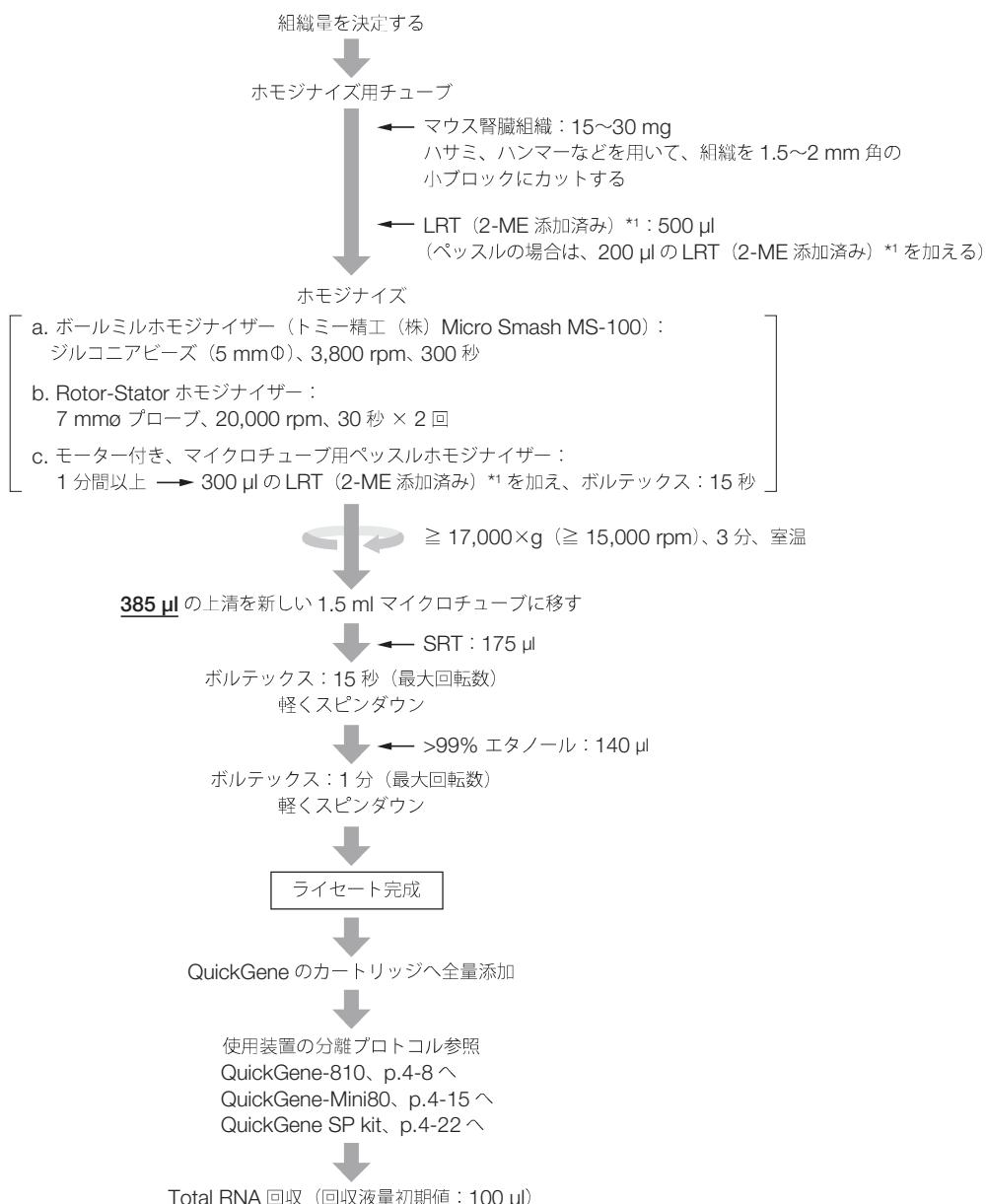
- : ネガティブコントロール (RNase-free water)

共通プロトコルサンプル

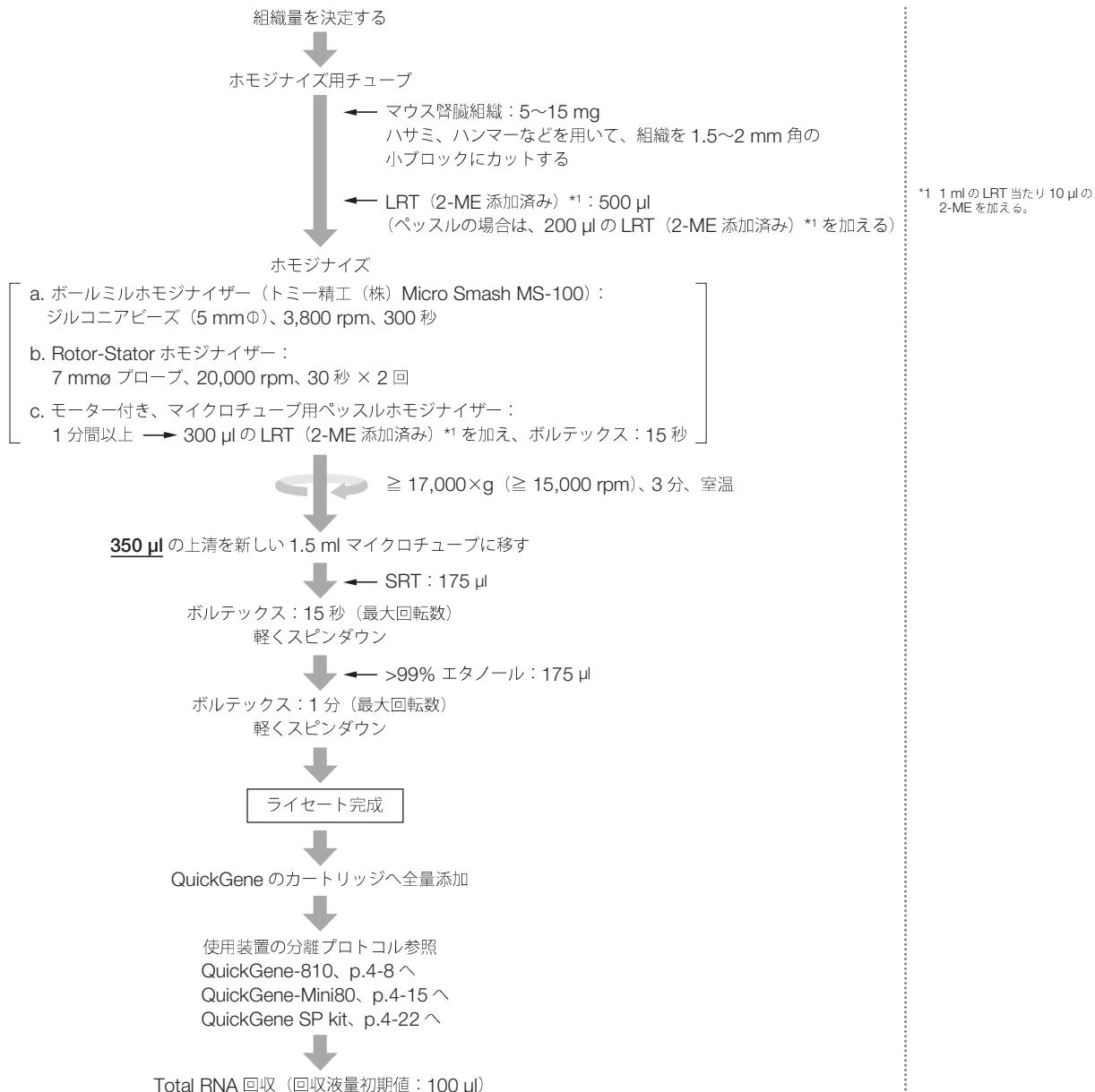
マウス小腸、マウス胃

マウスの腎臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

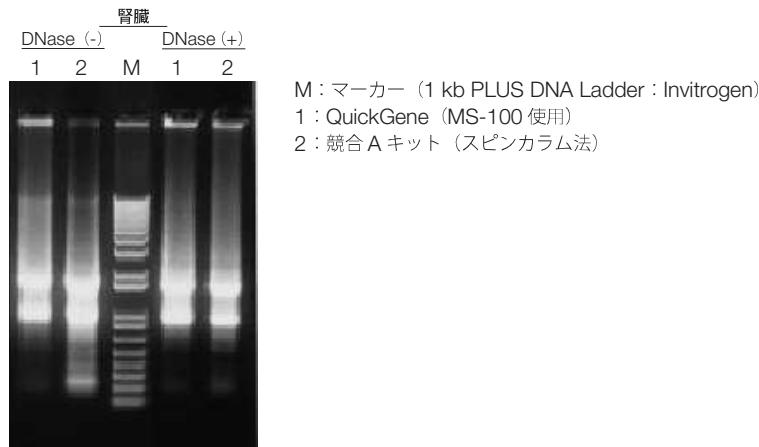


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いてマウス腎臓組織から分離された total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 55 µg | 54 µg | 5 mg | 16 µg | 13 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 2.30 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 2.21 | 2.09 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >
 テンプレート : マウス腎臓からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng
 酵素 : SuperScript II (Invitrogen)

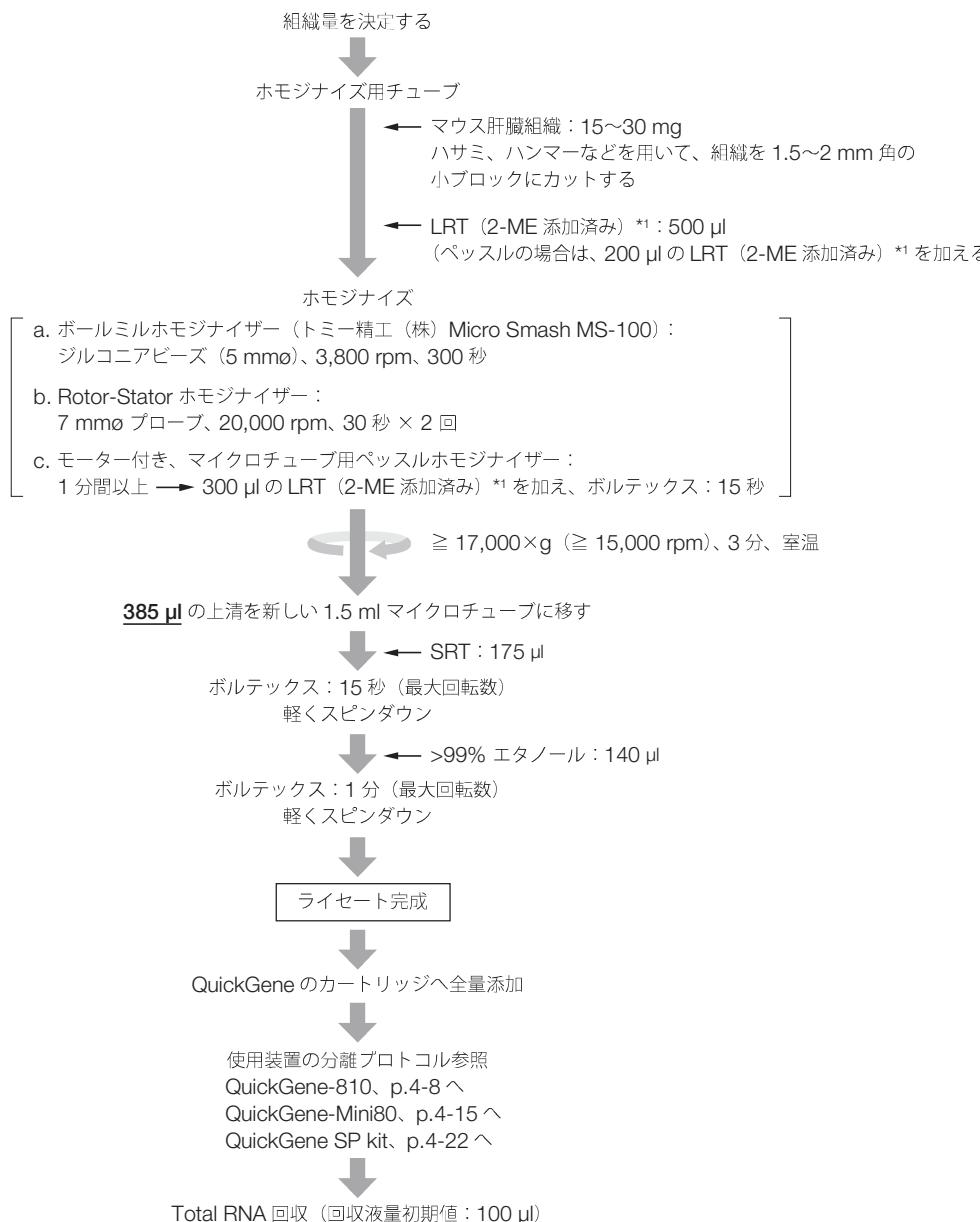


共通プロトコルサンプル

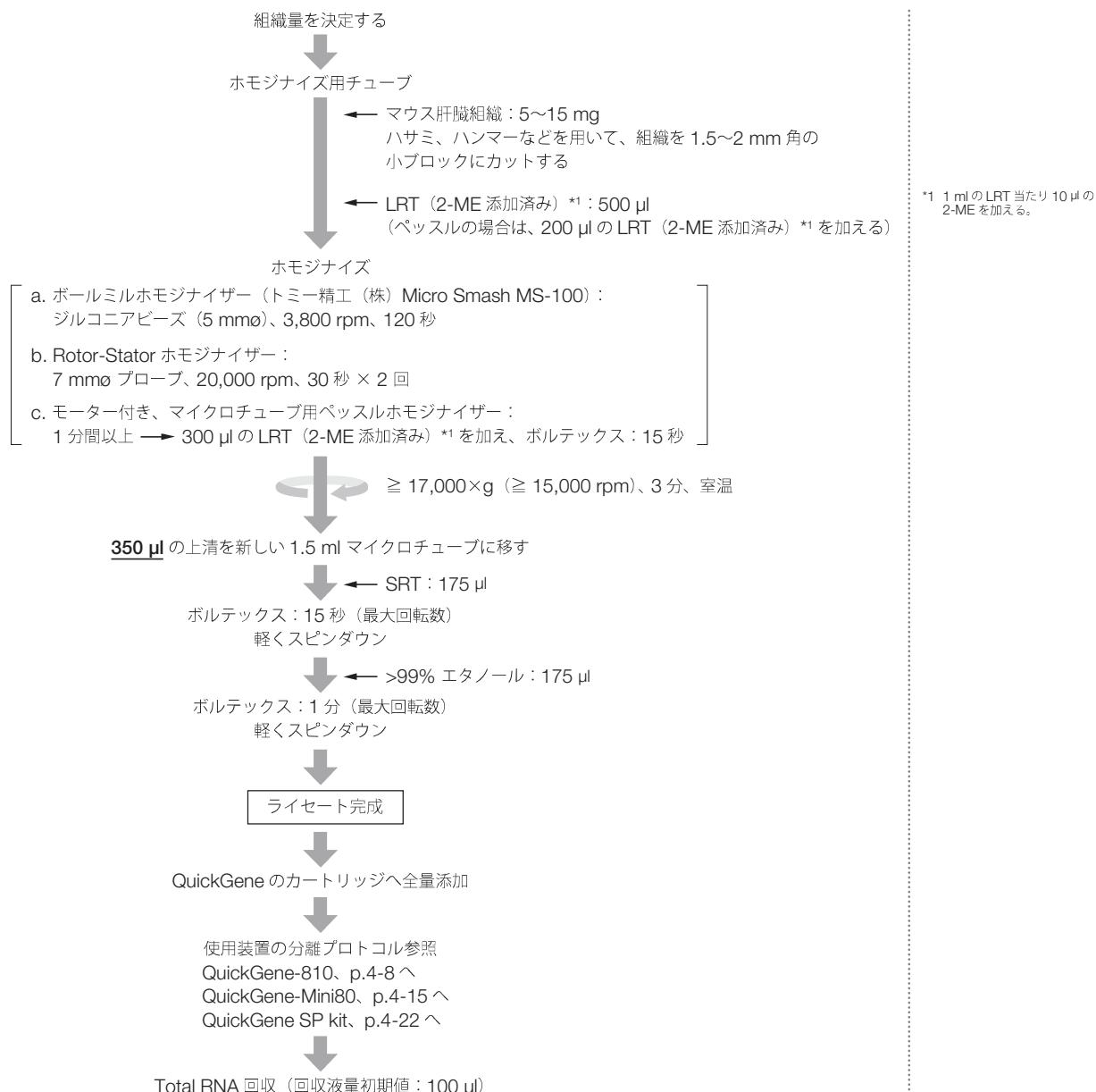
マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス脾臓

マウス肝臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

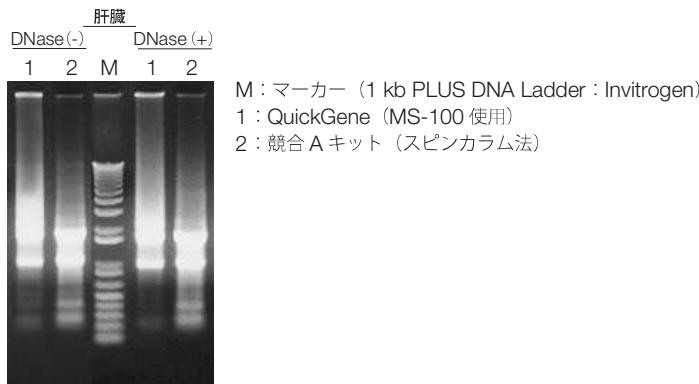


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いてマウスの肝臓組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 23 µg | 25 µg | 5 mg | 33 µg | 27 µg |
| | 30 mg | 122 µg | 142 µg | 15 mg | 54 µg | 55 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 2.24 | 2.18 |
| | 30 mg | 2.21 | 2.20 |

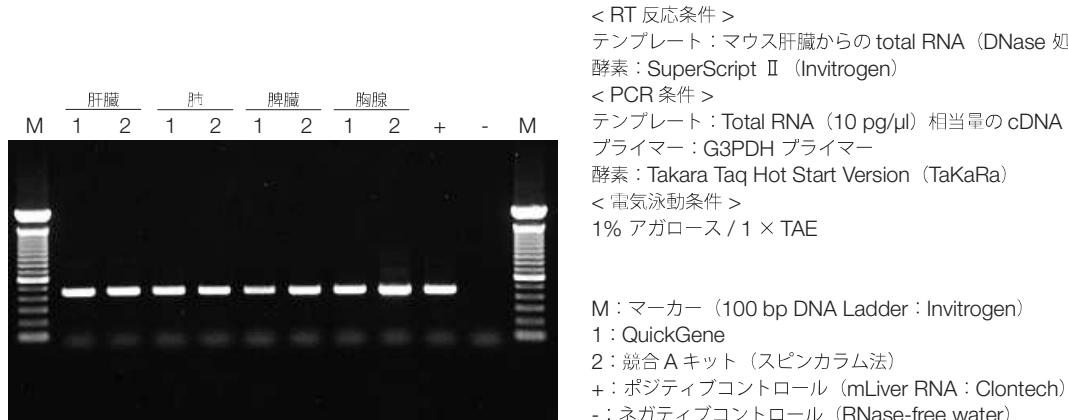
カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 2.06 | 1.99 |
| | 30 mg | 2.21 | 2.26 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

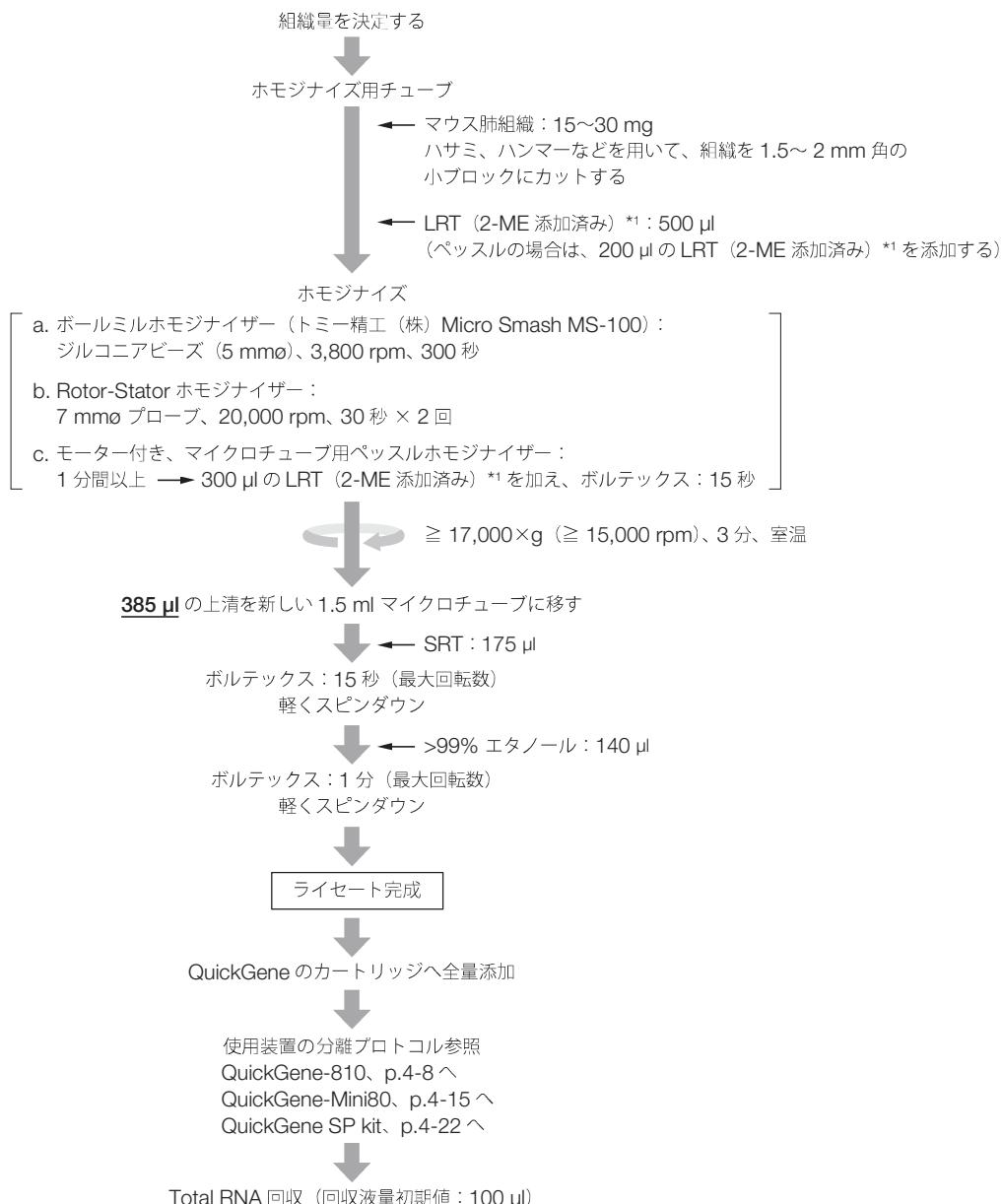


共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

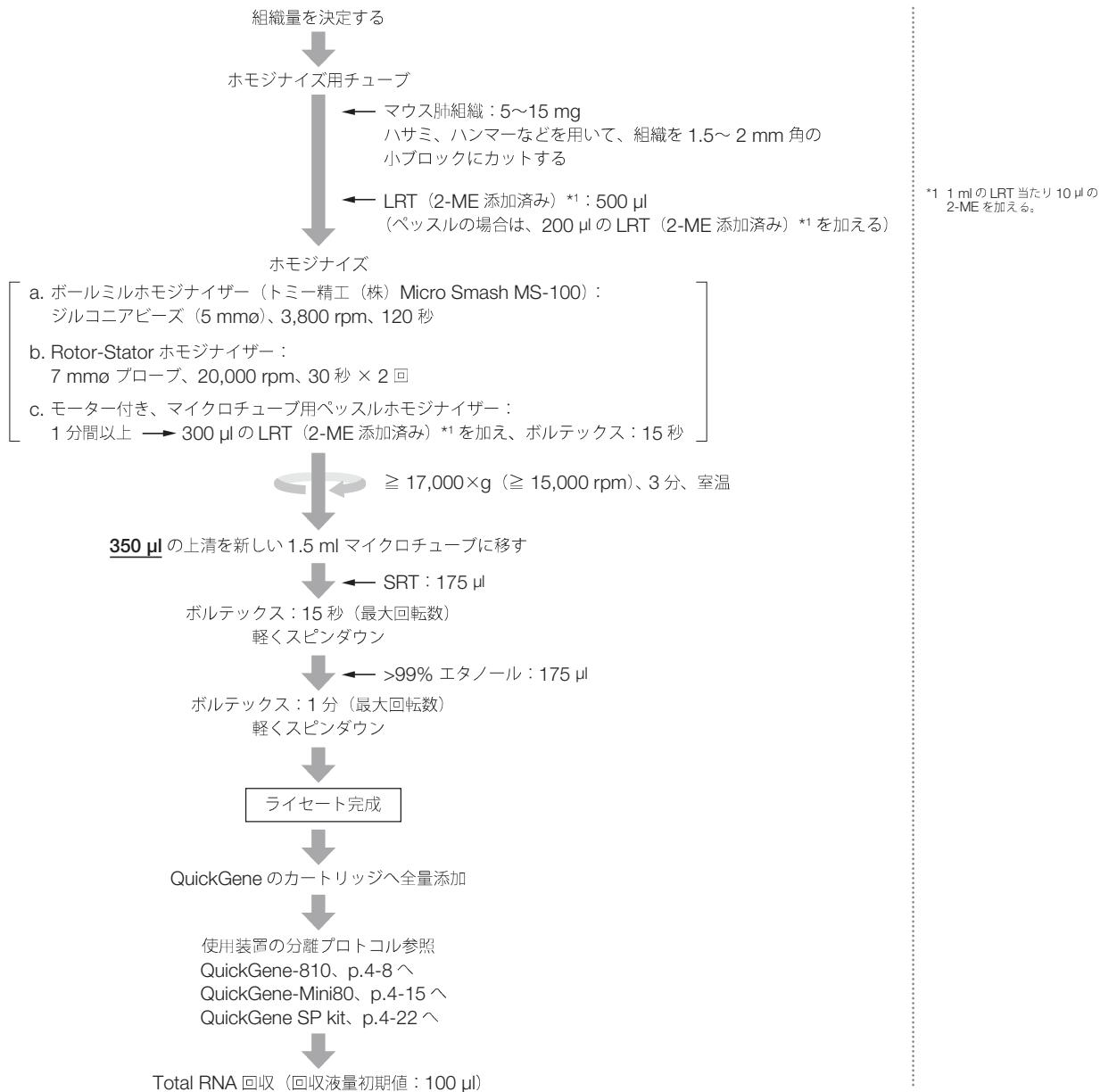
マウス肺からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



● (1)この本に含まれるプロトコルには実績はありますが確立されていないプロトコルも含まれています。サンプルの種類・保存条件などによっては分離できない場合もあります。データに関しては保障しておりません。
(2)分離した核酸には目的以外の核酸 (例: DNA 分離にはRNA) が含まれています。

プロトコル 2 (5-15 mg)

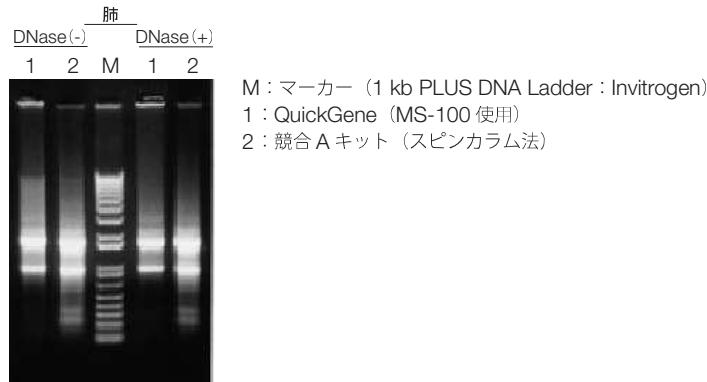


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いてマウスの肺組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 29 µg | 28 µg | 15 mg | 7 µg | 7 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 2.18 | 2.19 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 2.16 | 2.05 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >
テンプレート : マウス肺からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng
酵素 : SuperScript II (Invitrogen)

< PCR 条件 >
テンプレート : Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA
プライマー : G3PDH プライマー
酵素 : Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)

< 電気泳動条件 >
1% アガロース / 1 × TAE

M : マーカー (100 bp DNA Ladder : Invitrogen)
1 : QuickGene
2 : 競合 A キット (スピンドカラム法)
+ : ポジティブコントロール (mLiver RNA : Clontech)
- : ネガティブコントロール (RNase- フリー水)

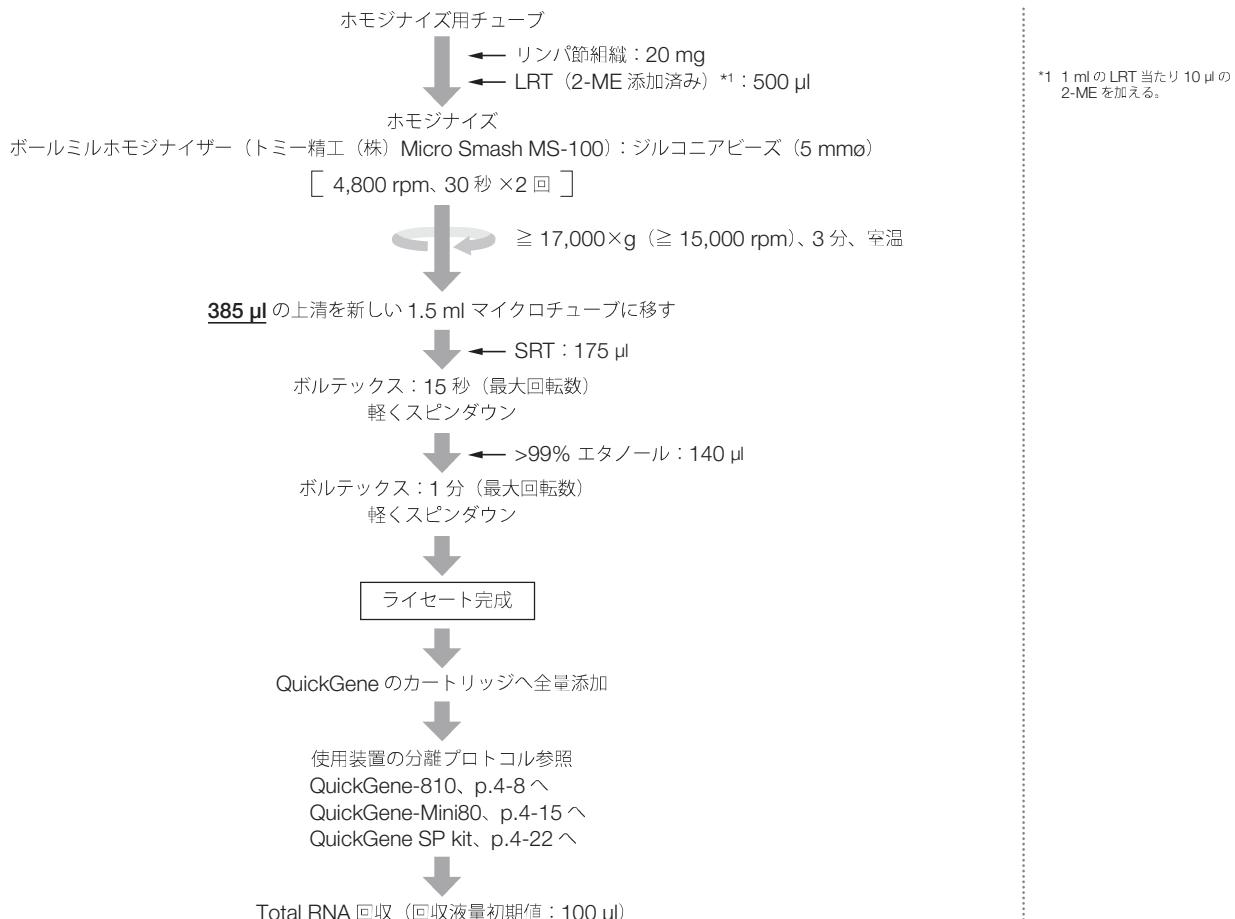
共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス腎臓、マウス脾臓

● (1)この本に含まれるプロトコルには実績はありますが確立されていないプロトコルも含まれています。サンプルの種類・保存条件などによっては分離できない場合もあります。データに関しては保障しておりません。
(2)分離した核酸には目的以外の核酸（例：DNA 分離にはRNA）が含まれています。

マウスリンパ節からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| リンパ節の量 | 収量 (µg) |
|--------|---------|
| 20 mg | 6.8 |

タンパク質の混入 : A260/280

| リンパ節の量 | A260/280 |
|--------|----------|
| 20 mg | 2.0 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

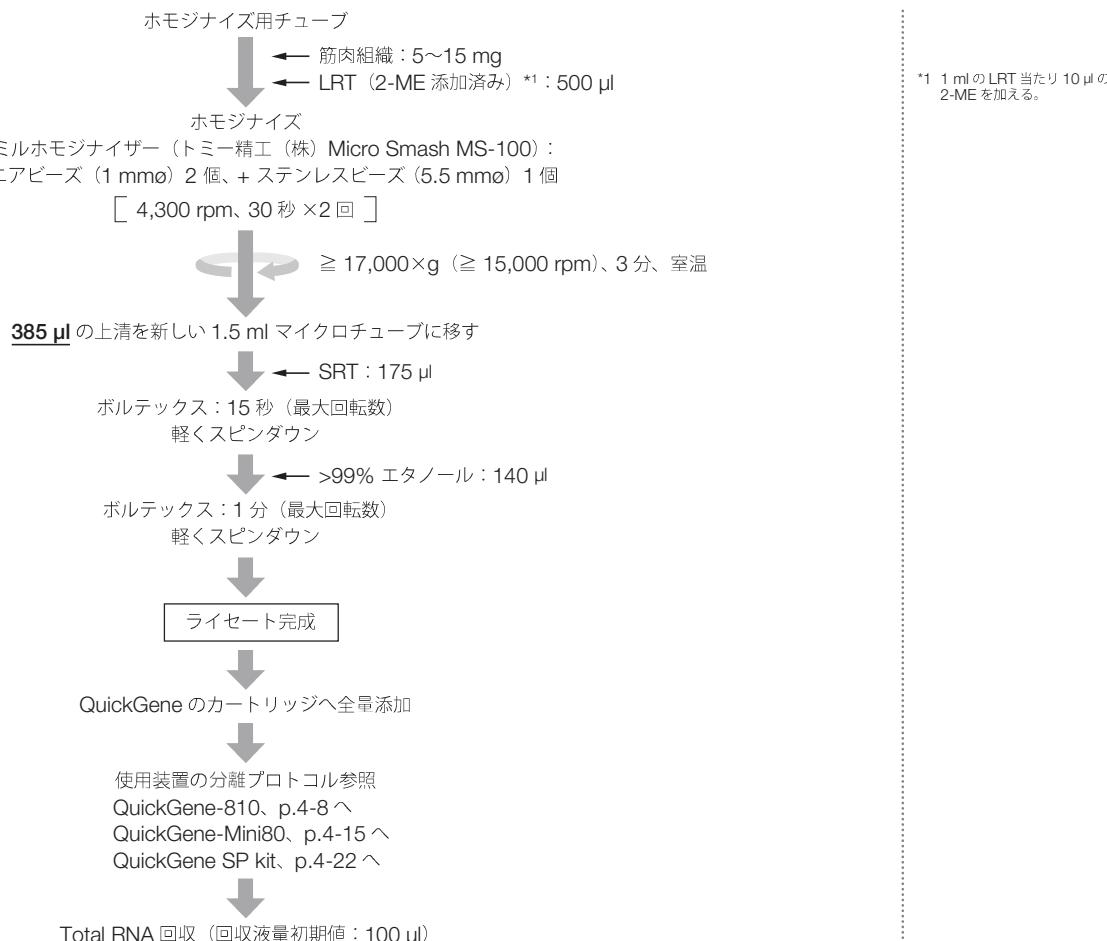
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ラット筋肉からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 筋肉の量 | 収量 (µg) |
|--------|---------|
| 8.8 mg | 2.0 |

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

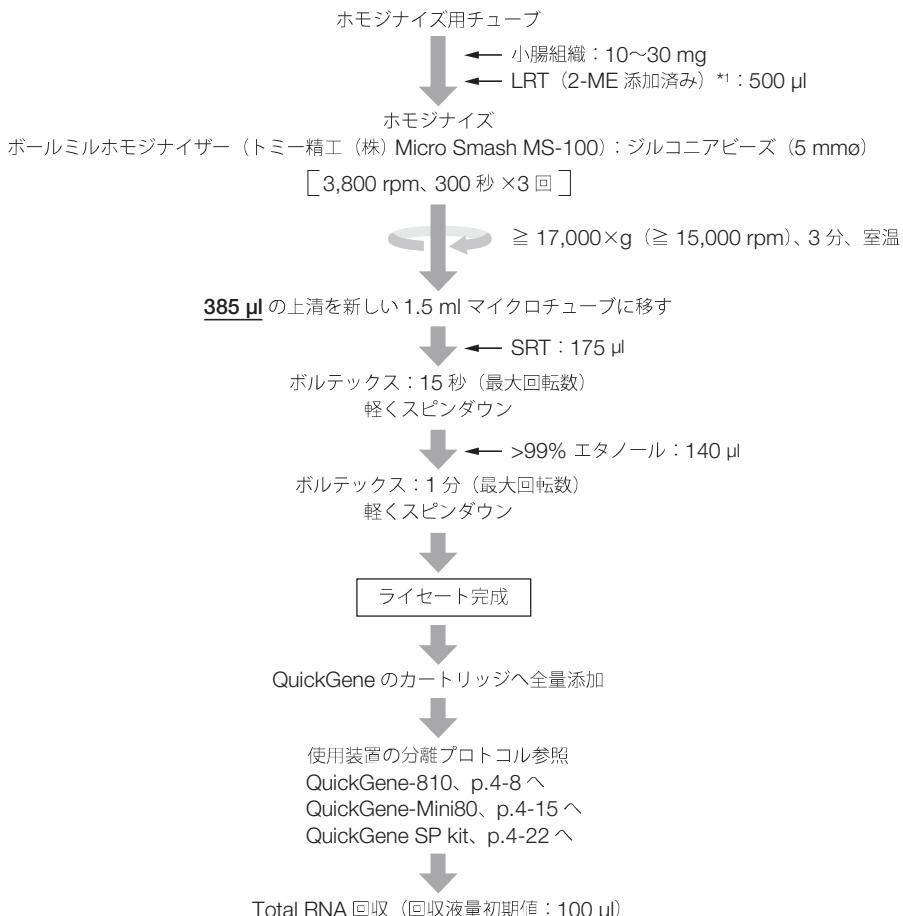
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

マウス小腸からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 小腸の量 | 収量 (μ g) |
|---------|---------------|
| 14.7 mg | 4.4 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 小腸の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 14.7 mg | 2.01 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

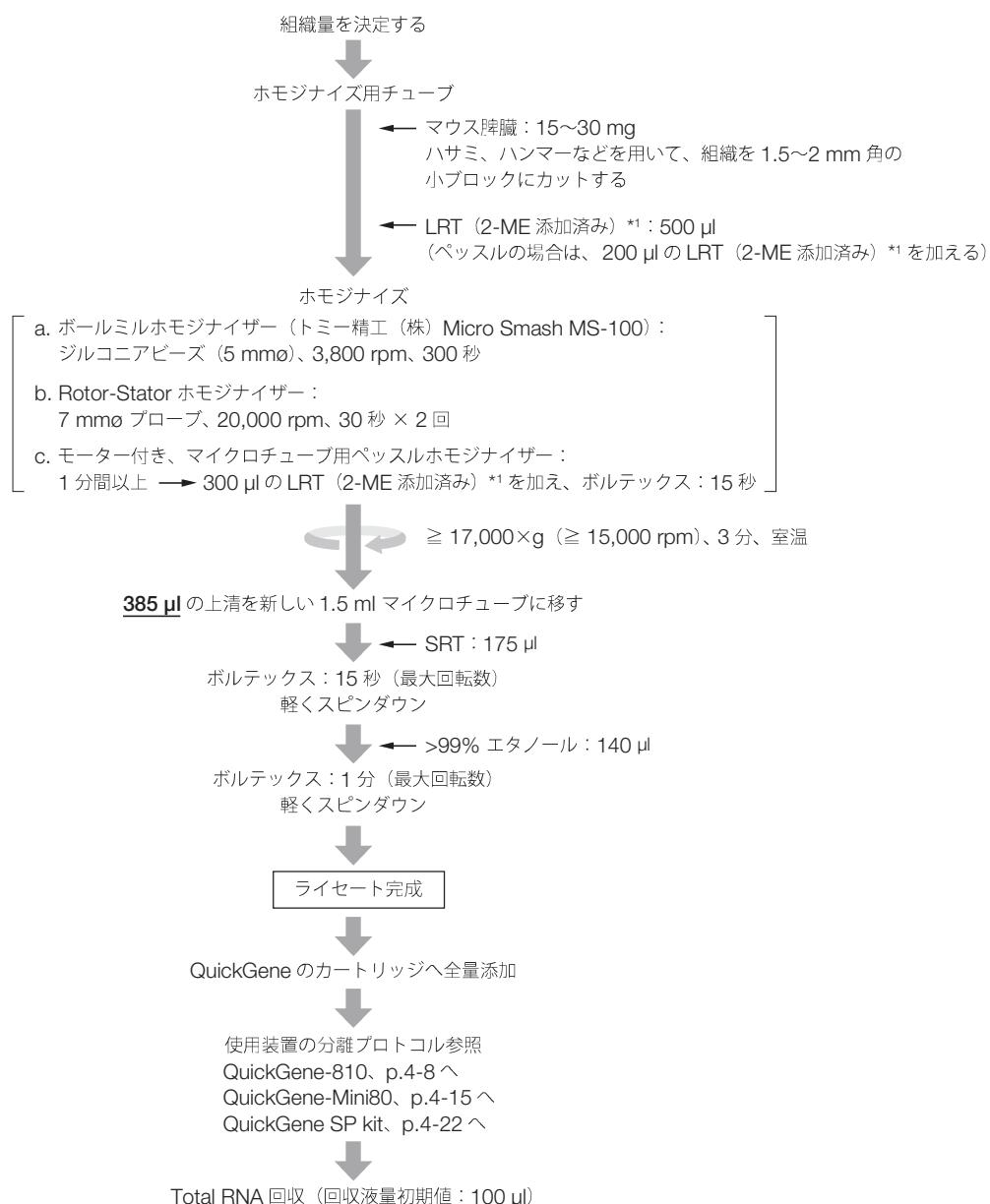
データなし

共通プロトコルサンプル

マウス心臓

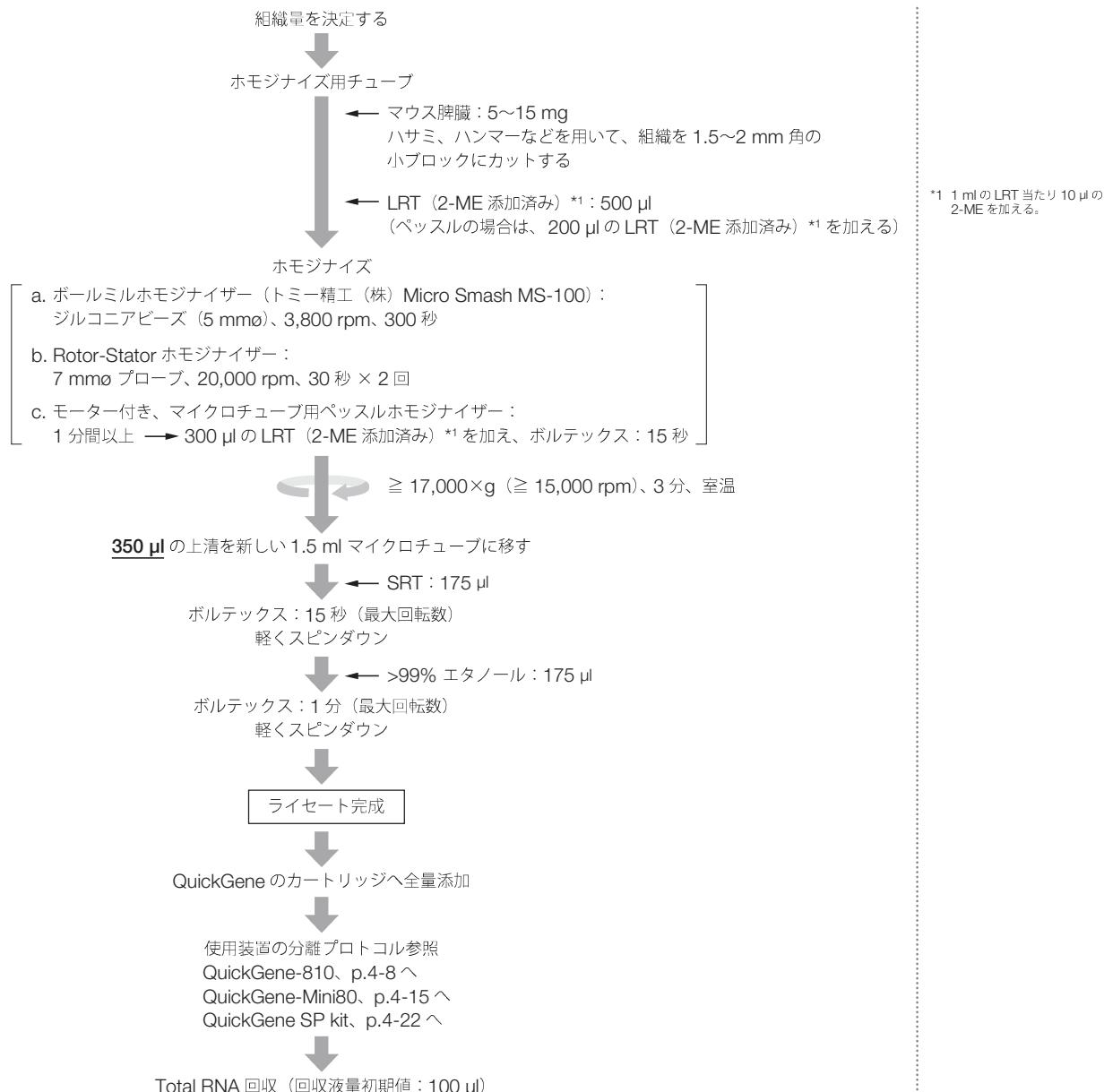
マウス脾臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μl の 2-ME を加える。

プロトコル 2 (5-15 mg)

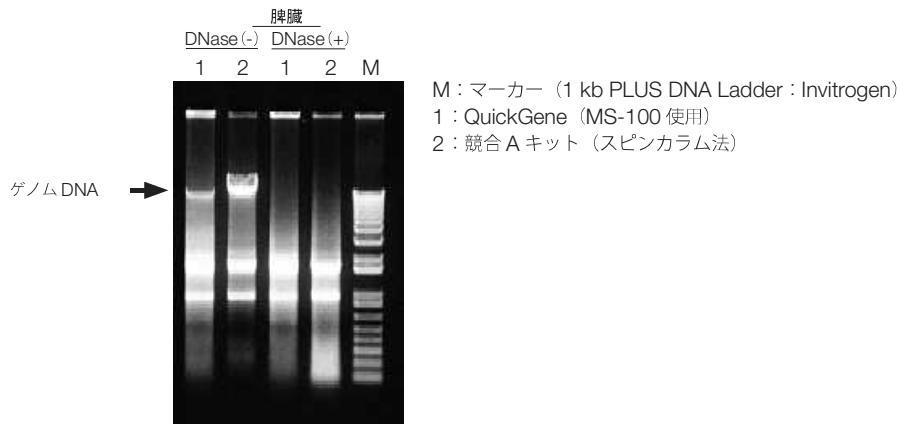


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いて、マウスの脾臓組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 48 µg | 54 µg | 20 mg | 32 µg | 31 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 2.05 | 2.30 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 2.23 | 2.09 |

その他

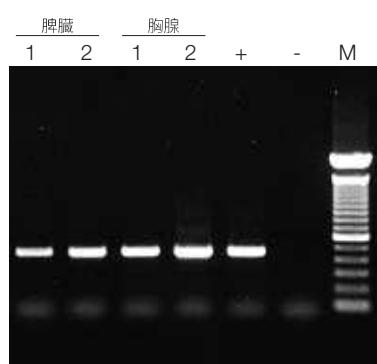
• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピンドカラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート：マウス脾臓からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng

酵素：SuperScript II (Invitrogen)



< PCR 条件 >

テンプレート：Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA

プライマー：G3PDH プライマー

酵素：Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE

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

1 : QuickGene

2 : 競合 A キット (スピンドカラム法)

+ : ポジティブコントロール (mLiver RNA : Clontech)

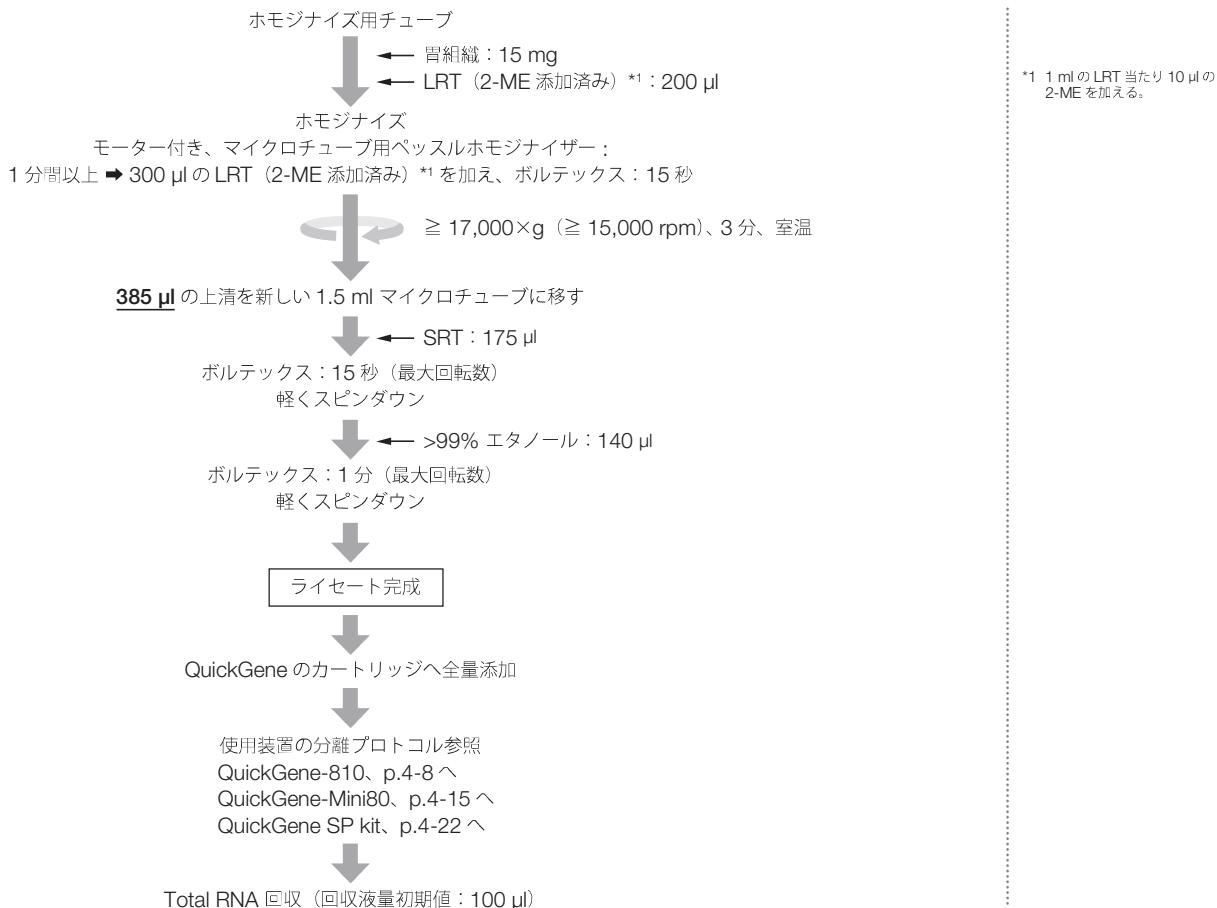
- : ネガティブコントロール (RNase-free water)

共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓

ヒトの胃からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 胃の量 | 収量 (μg) |
|-------|---------|
| 15 mg | 2.0 |

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

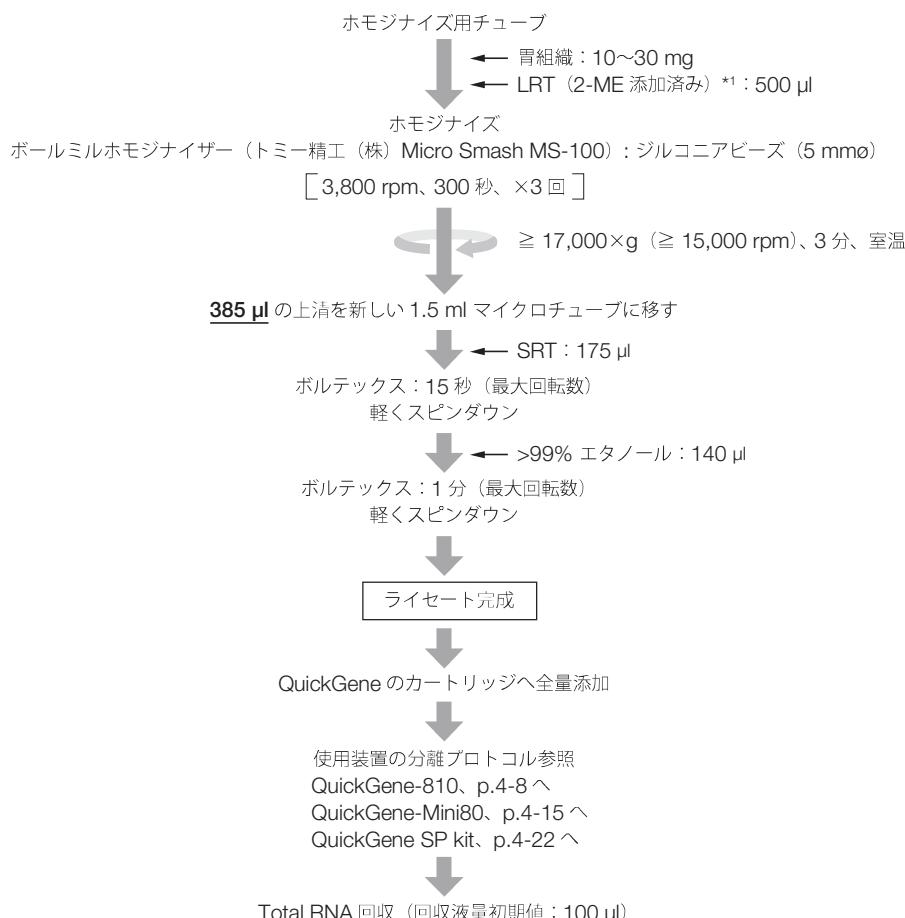
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

マウス胃からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を加える。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 胃の量 | 収量 (µg) |
|---------|---------|
| 11.1 mg | 12.6 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 胃の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 11.1 mg | 2.06 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

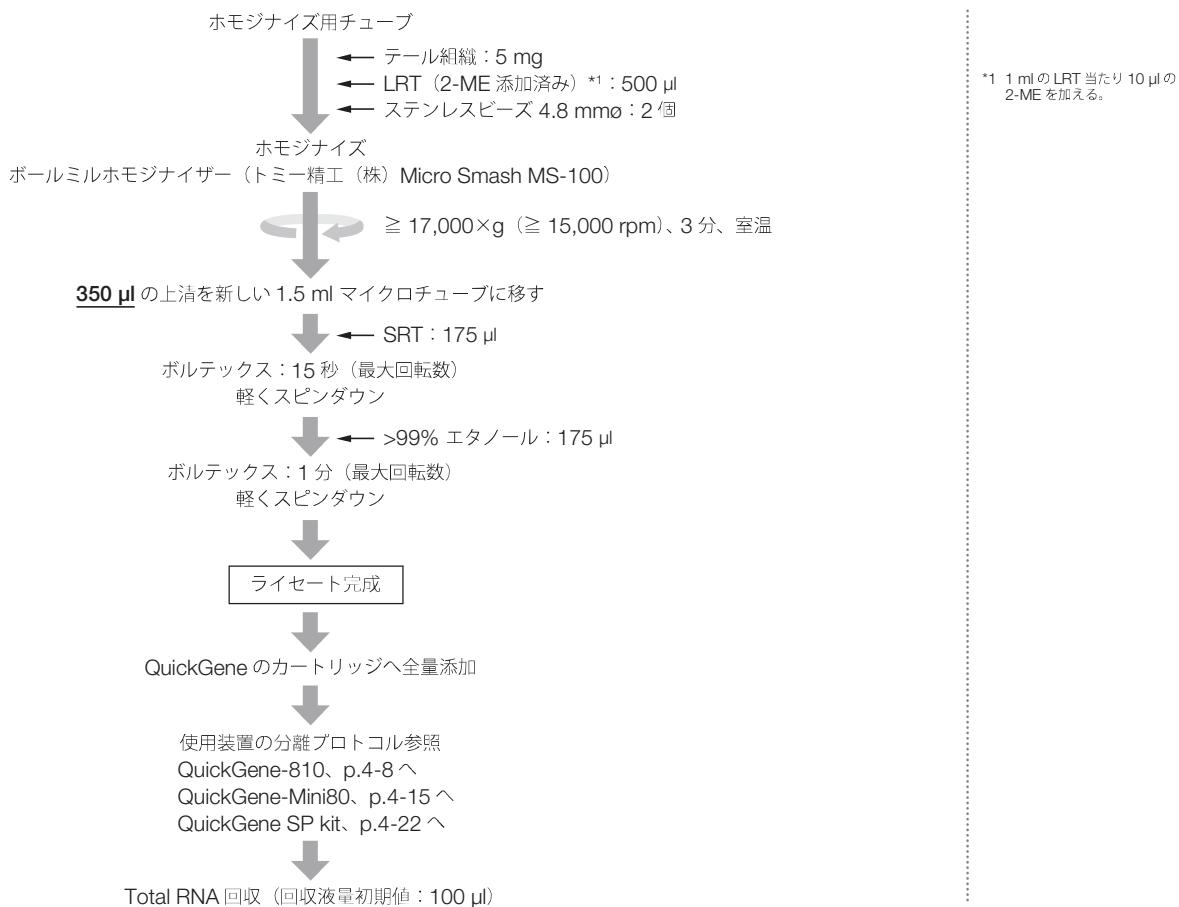
データなし

共通プロトコルサンプル

マウス心臓

マウス尾からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| テールの量 | 収量 (μ g) |
|--------|---------------|
| 約 5 mg | 4.0 |

タンパク質の混入 : A260/280

| テールの量 | A260/280 |
|--------|----------|
| 約 5 mg | 2.36 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

データなし

共通プロトコルサンプル

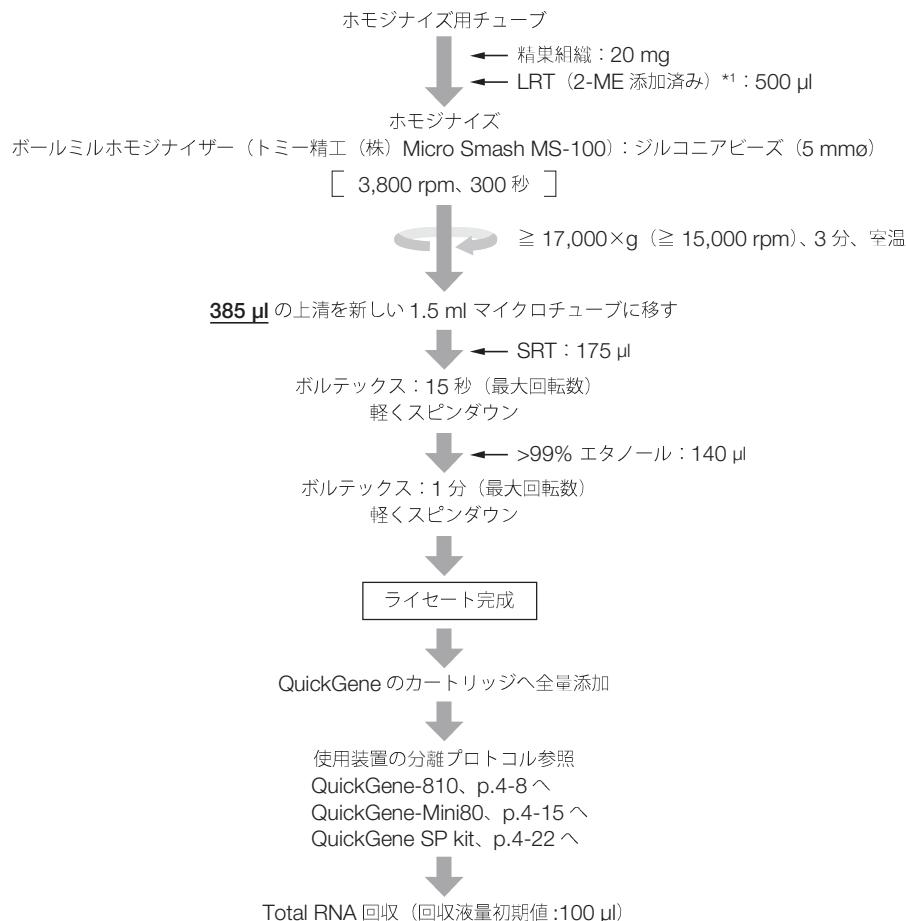
データなし

RA-b-20

 QuickGene RNA tissue kit S II (RT-S2)
 QuickGene SP kit RNA tissue (SP-RT)

マウス精巣からの total RNA分離

プロトコル



*1 1ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を加える。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 精巣の量 | 収量 (µg) |
|-------|---------|
| 20 mg | 20 |

タンパク質の混入 : A260/280

| 精巣の量 | A260/280 |
|-------|----------|
| 20 mg | 2.0 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

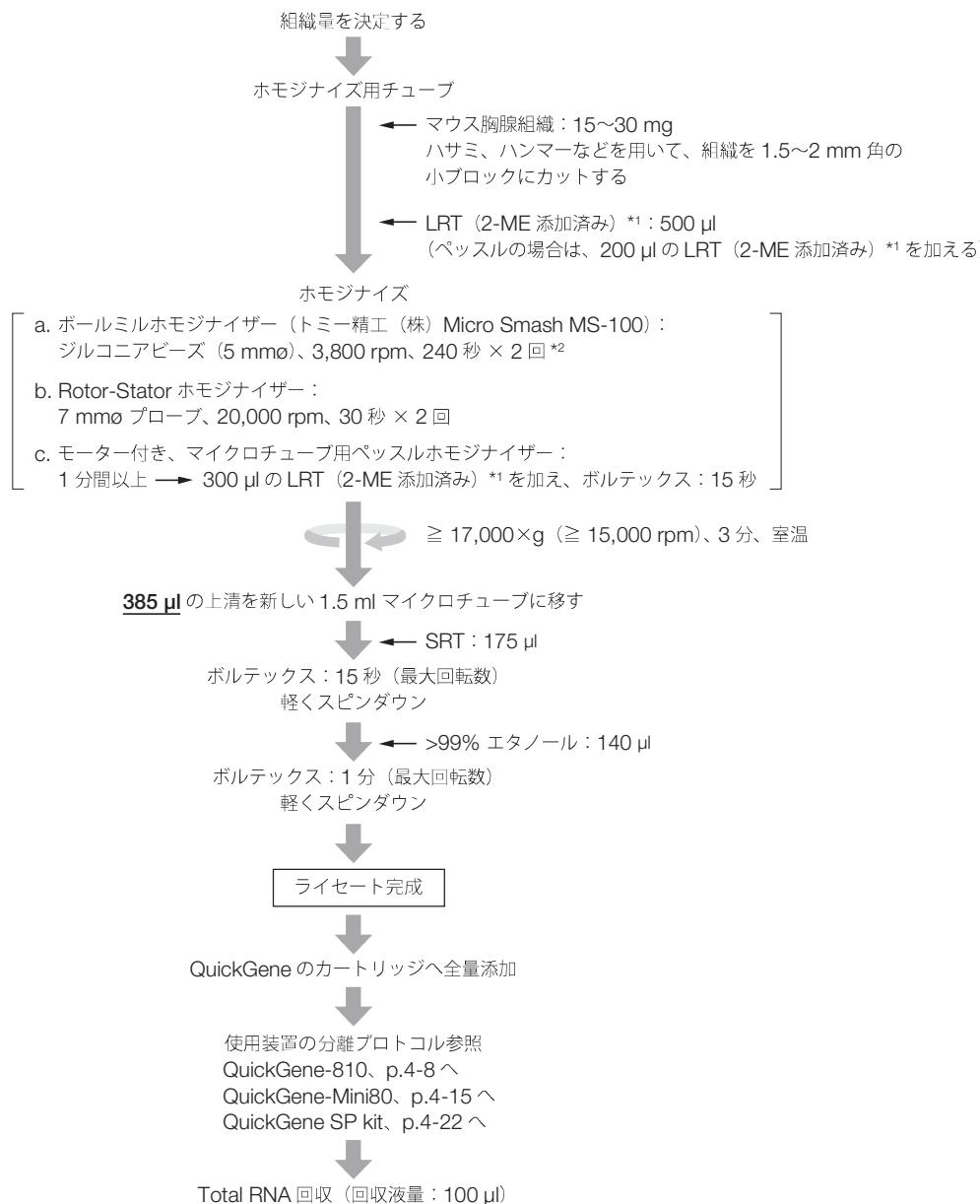
データなし

共通プロトコルサンプル

マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

マウス胸腺からの total RNA分離

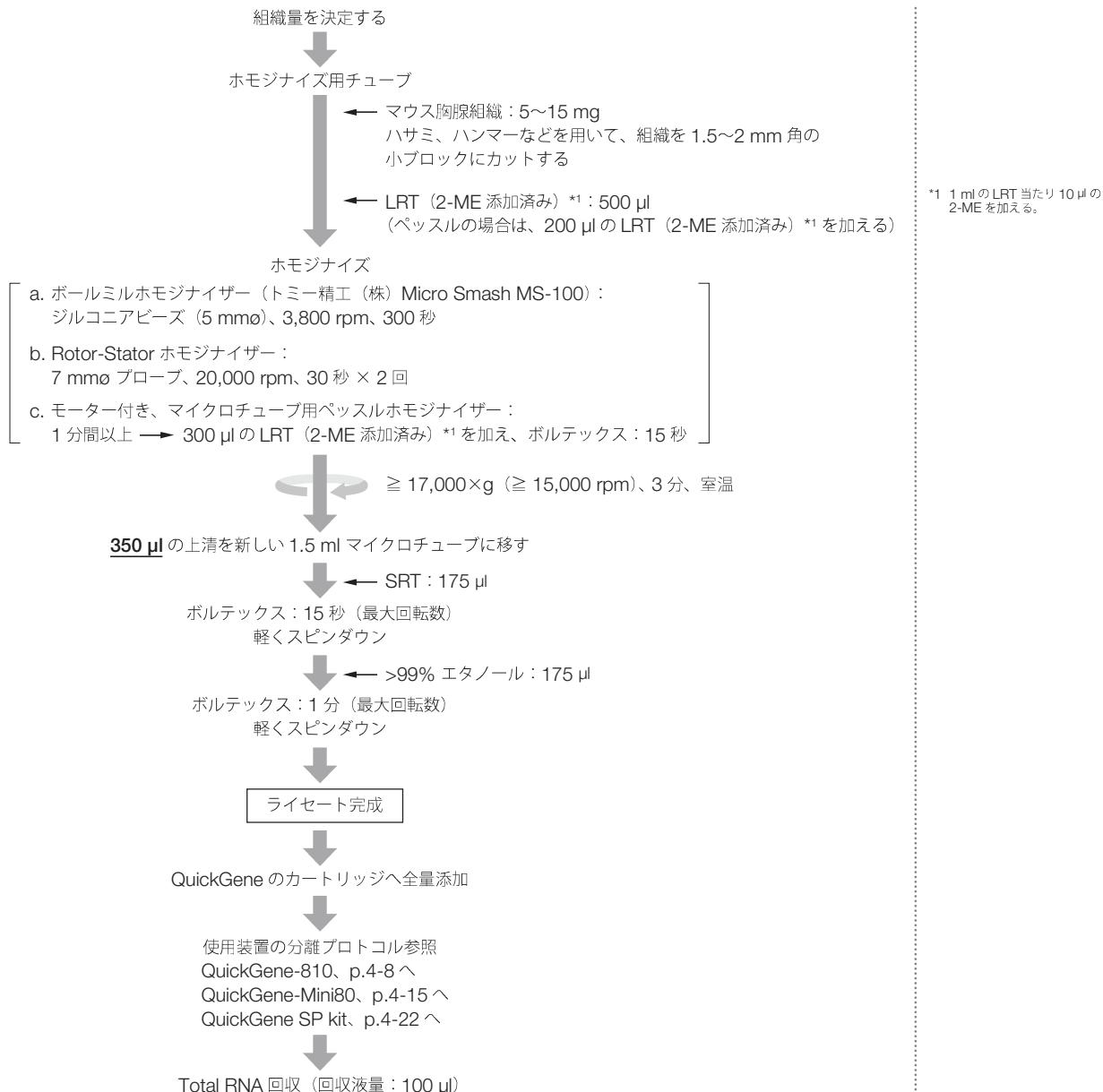
プロトコル 1 (15-30 mg)



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μl の 2-ME を加える。

*2 胸腺の場合は、トミー Micro Smash MS-100R (クーラー付き)の方が、MS-100 に比べて収量が上がります。

プロトコル 2 (5-15 mg)

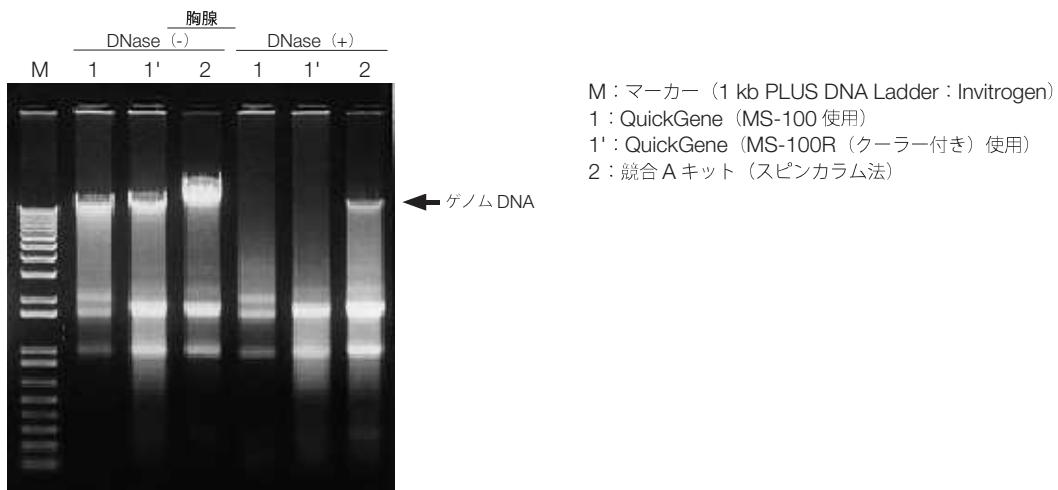


結果

電気泳動図

Total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



胸腺などに対して、QuickGene システムで、競合 A キット（スピンドカラム法）の場合よりもゲノム DNA 混入の少ない total RNA の分離ができる。

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 43 µg | 27 µg | 5 mg | 19 µg | 17 µg |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 2.17 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入 : A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 2.15 | 2.17 |

その他

- RT-PCR

Total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート : マウス胸腺からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng

酵素 : SuperScript II (Invitrogen)

< PCR 条件 >

テンプレート : Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA

プライマー : G3PDH プライマー

酵素 : Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



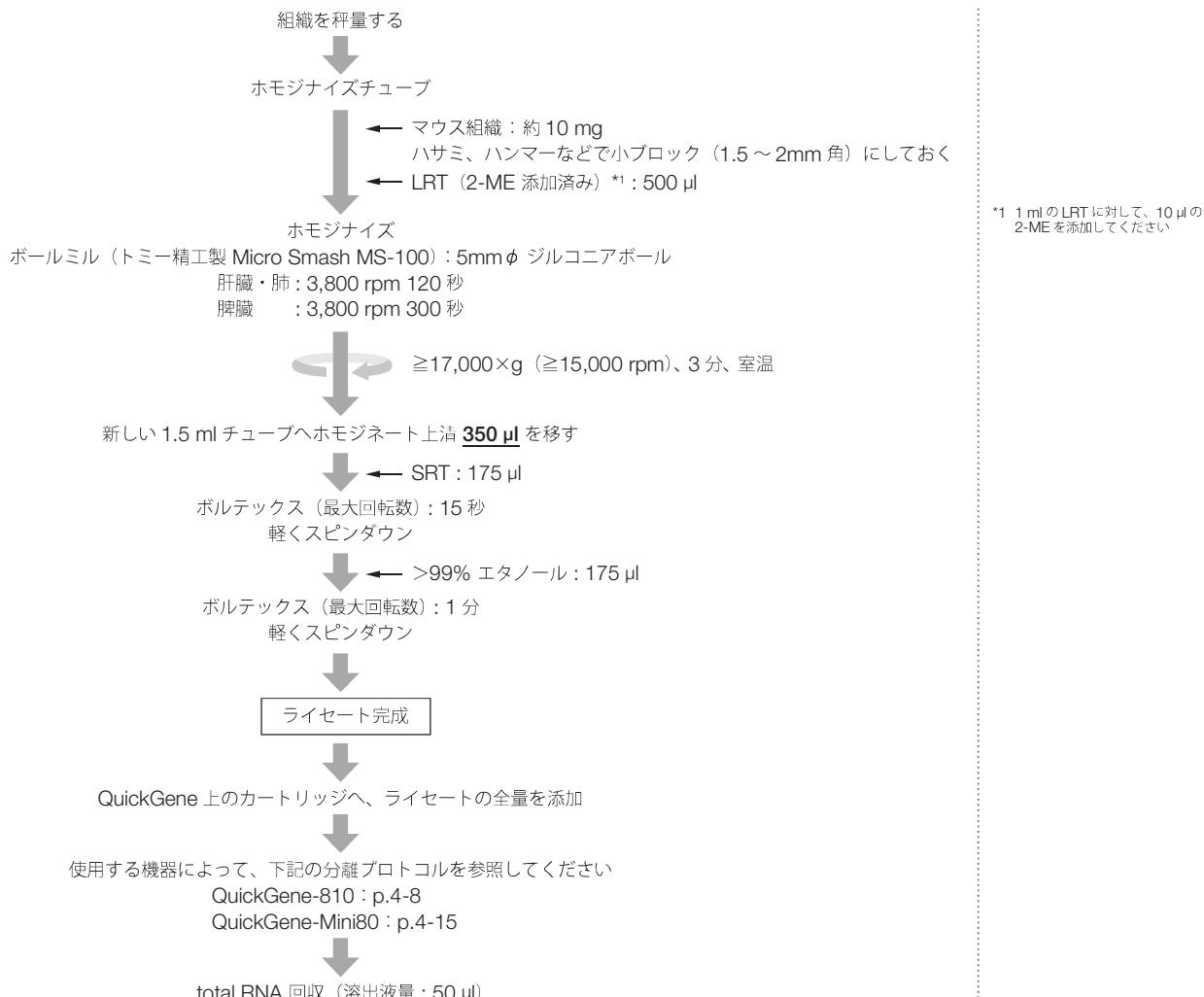
共通プロトコルサンプル

データなし



DNA チップ"ジェノパール®"のためのマウス組織からの total RNA 分離

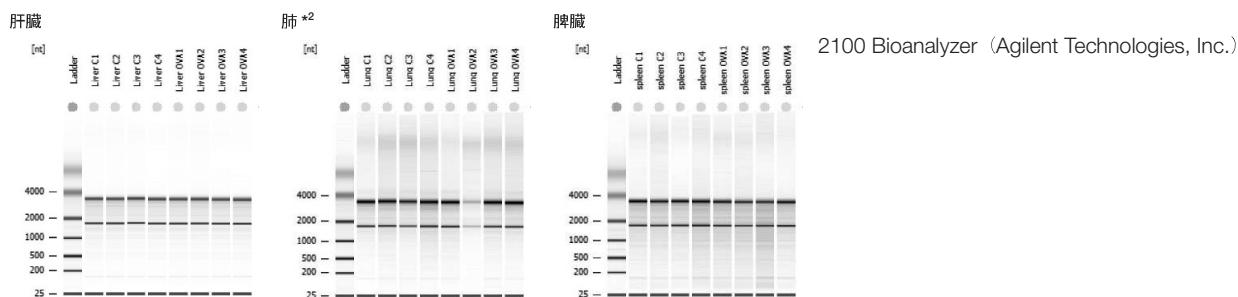
プロトコル



結果

電気泳動図

QuickGene システム (ポールミル型ホモジナイザー使用) を用いて各マウス組織から total RNA を分離した。



*2 サンプル分を分離し、あわせた後、濃縮した結果

※ "ジェノパール®" は、三菱レイヨン株式会社の登録商標です。

total RNA の収量

| 組織 | 収量 (μg) | | | | | | | |
|------|---------|------|------|------|------|------|------|------|
| | C1 | C2 | C3 | C4 | OVA1 | OVA2 | OVA3 | OVA4 |
| 肝臓 | 65.9 | 56.2 | 59.5 | 72.2 | 63.0 | 50.6 | 69.7 | 96.1 |
| 肺 *3 | 10.6 | 5.1 | 4.9 | 8.1 | 9.3 | 2.5 | 6.2 | 6.2 |
| 脾臓 | 33.2 | 23.6 | 40.8 | 30.0 | 27.6 | 24.5 | 32.2 | 47.4 |

*3 2サンプル分を分離し、あわせた後、濃縮した結果

タンパク質の混入 : A260/280

データなし

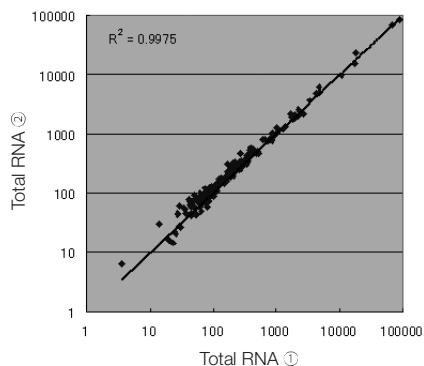
カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

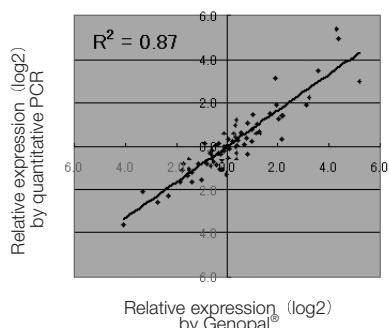
その他

• “ジェノパール®” 解析

マウス 209 遺伝子を搭載した三菱レイヨン製マウス版アレルギーチップ ARIM-GX を用いて、標準プロトコールに従って、マウス各サンプルの各遺伝子の蛍光強度を測定し、各群間の発現差 (\log_2 ratio) を算出した。



同一の組織サンプルからそれぞれ分離した total RNA を用いて調製した aRNA の “ジェノパール®” による解析データは、高い再現性を示した ($R^2=0.99$ 以上)。



アレルギーチップ “ジェノパール®” と定量 PCR により得られた発現差の数値データ (\log_2 ratio) は、高い相関を示した ($R^2=0.87$)。

共通プロトコルサンプル

データなし

