

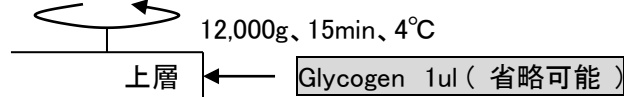
TRIZOL による細胞からの Total RNA 抽出方法

- ・接着細胞の場合: (シャーレ)を氷上に置き実験を始める直前に培養液を捨てる
- ・浮遊細胞の場合: 細胞懸濁液をコニカルチューブに回収し、1100rpm、3min、4°Cで遠心、上清を除去

- ← 氷冷 PBS ()ml でシャーレを洗う
- ← **TRIZOL** 1ml 加え、ピペッティングして、完全に溶解

1.5ml tube へ移し、5min 室温インキュベート

- ← **Chloroform** 200ul. Vortex 15s、2~3min 室温インキュベート



Vortex

- ← 2-Propanol 500ul (上清と同量)

Vortex、10min 4°C インキュベート



- 沈殿確認、上清を捨て ← 70% Ethanol 1ml
- 12,000g、5min、4°C

上清を捨て

沈殿が透明になるまで乾燥 (DNase 処理を必要としない場合はここで終了)

- ← 10x DNase I Buffer 5.0ul
- ← RNase free water 39.5ul
- ← RNase Inhibitor (20U/ul) 0.5ul
- ← DNase I (1U/ul) 5.0ul

完全に溶解

37°C、15min、インキュベート

- ← RNase free water 200ul
- ← **水飽和 PhOH/CHCl₃/IAA** 200ul

Vortex

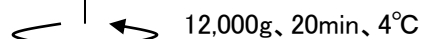


- ← 3M Na-AcOH pH5.2 20ul (上清の 1/10 量)

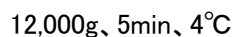
Vortex

- ← 99.5% Ethanol 500ul (上清の 2.5 倍量)

Vortex



- 沈殿確認、上清を捨て ← 70% Ethanol 1ml



沈殿確認、上清を捨て

Total RNA

赤字の試薬は毒物保管庫
にあります。使用後は必ず
使用記録を記入し、
廃液は専用ビンに捨てること。