

TRIZOL による組織からの Total RNA 抽出方法

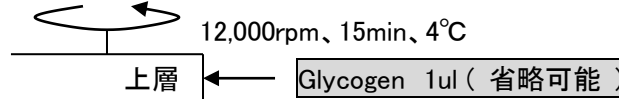
2ml 破砕チューブ

- ← ステンレスビーズ 2 個 or タングステン ビーズ 1 個
- ← 組織
- ← TRIZOL 1ml

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

Homogenate (Shake Master 1500rpm x 3min or _____)

- ← 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)

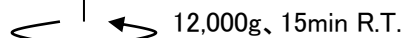
- ← 10x DNase I Buffer 5.0ul
- ← RNase free water 39.5ul
- ← RNase Inhibitor (20U/ul) 0.5ul
- ← DNase I (1U/ul) 5.0ul

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

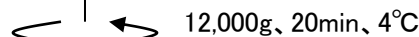


- ← 3M Na-AcOH pH5.2 20ul (上清の 1/10 量)

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
- 12,000g, 5min, 4°C

沈殿確認、上清を捨て

Total RNA