

## RNA SHIELDER™で調製した RNA サンプルを用いた実験例

### (1) RNA 抽出

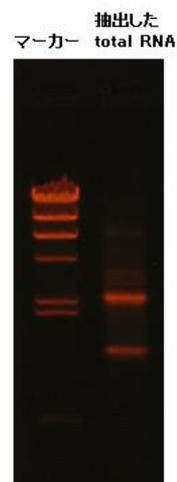
- ・K562 培養細胞  $1 \times 10^7$  個から QIAGEN RNeasy Mini Kit を用いて RNA を抽出しました。
- ・最終的に Kit 溶出液 70  $\mu\text{L}$  で RNA を溶出しました。

### (2) RNA 濃度算出

- ・吸光度測定用に RNA 溶出液の一部を、Kit 溶出液で希釈しました。  
(※この際、260nm における吸光度が 0.1~1.0 の範囲に入るように希釈調製しました。)
- ・光路長 1cm の光学セルと分光光度計 GeneQuant 100 (GE Healthcare) を用いて、RNA 希釈液の吸光度を測定しました。
- ・測定した吸光度と希釈倍率を考慮して total RNA の質量濃度を算出します。  
(※この際、弊社 Web サイト便利ツールをご利用いただくと便利です。)

### (3) 電気泳動

- ・溶出 RNA の一部から 200ng 相当をサイズマーカーと共にアガロースゲル電気泳動にかけました。
- ・泳動後、リボソーム RNA の 2 本のバンドが鮮明で、RNA が問題なく抽出されていることを確認しました。
- ・右図は電気泳動結果の例です。



### (4) RNA 保存サンプルの調製と保存

- ・RNA SHIELDER™と Kit 溶出液を用いて、溶出 RNA を 40ng/ $\mu\text{L}$  の濃度となるように調製しました。  
(※例えば濃度 1,000ng/ $\mu\text{L}$  の溶出 RNA 原液から、濃度 40ng/ $\mu\text{L}$ 、容量 200 $\mu\text{L}$  の RNA 溶液を調製する場合、「RNA 原液:Kit 溶出液:RNA SHIELDER™」=「8 $\mu\text{L}$ :172 $\mu\text{L}$ :20 $\mu\text{L}$ 」で混合します。)
- ・調製された RNA 溶液をスクリーキャップチューブに密閉し 2~8°C で冷蔵保存しました。

### (5) 保存 RNA に対する qRT-PCR

- ・上記の RNA SHIELDER™添加保存の RNA 溶液から 5 $\mu\text{L}$  (RNA 量 200ng) を採取し、Transcriptor FirstStrand cDNA Synthesis Kit (Roche Diagnostics) を用いて、総容量 20 $\mu\text{L}$  の逆転写反応を行いました。
- ・その逆転写溶液をキャリアーDNA (Herring Sperm 10ng/ $\mu\text{L}$ ) にて 1/5 希釈した cDNA 溶液 5 $\mu\text{L}$  をテンプレートとして、加水分解プローブ法による 20 $\mu\text{L}$  系リアルタイム PCR を行い、得られた Ct 値から RNA の良好な保存状態を確認することができました。