

高分子RNA, small RNA, total RNA を効率よく単離!

RNA 抽出試薬

# ISOGEN II

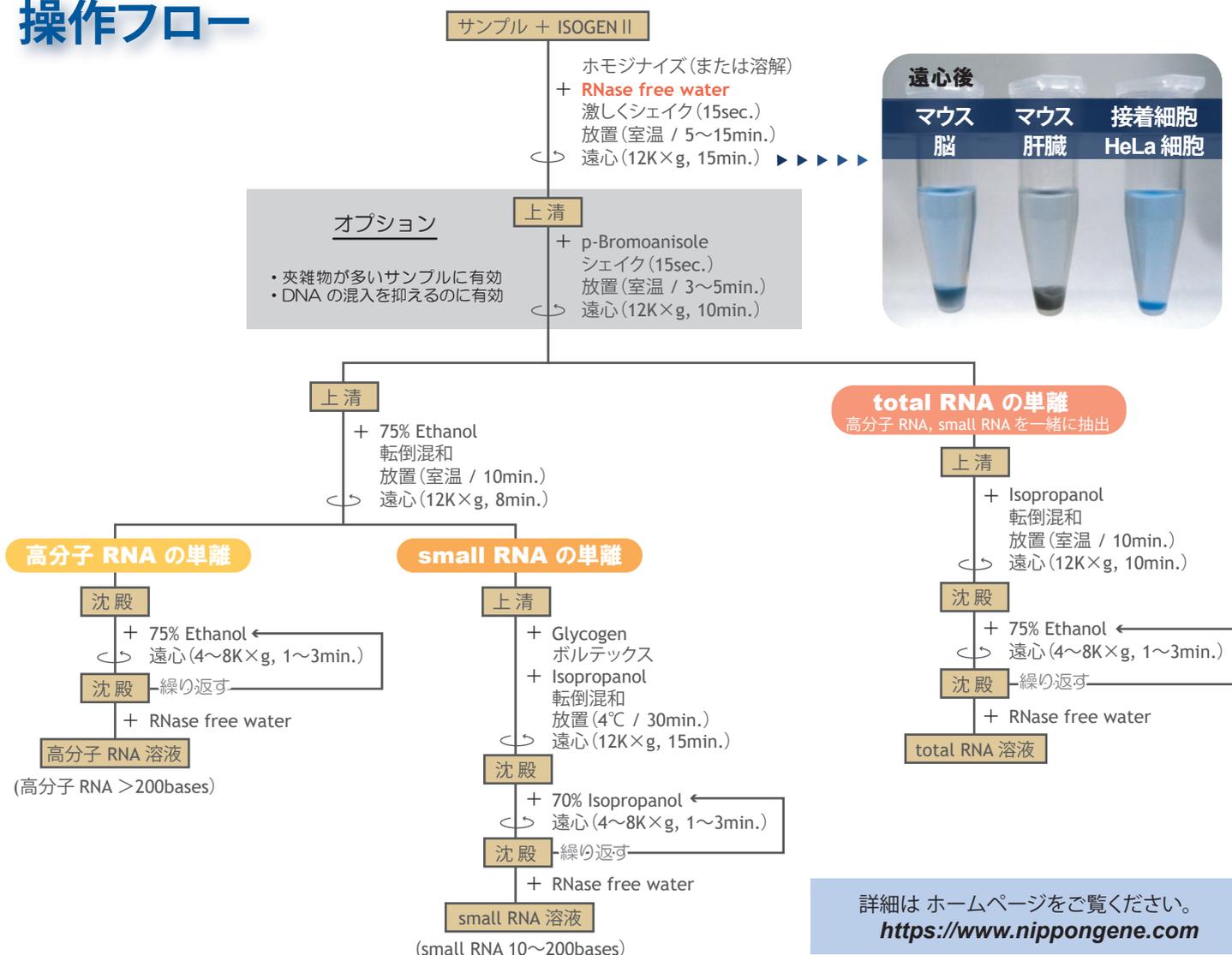
Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格
311-07361	ISOGEN II	100 mL	¥ 29,500
317-07363		10 mL	¥ 14,600

ISOGEN II (アイソジェン II) は、動物組織および培養細胞からの total RNA および small RNA 抽出用試薬です。フェノールとグアニジンを含む均一な液体であり、細胞成分との相互作用により、シングルステップで RNA を単離できます。従来法の試薬 (ISOGEN, ISOGEN-LS) のようにクロロホルムを用いた液相分離の必要がありません。試料に ISOGEN II を加えて溶解またはホモジナイズした後、水を添加すると、DNA・タンパク質・ポリサッカライド等は沈殿 (不溶化) するため、遠心分離によって除去できます。上清をエタノール沈殿・洗浄・溶解すると、高純度な RNA が単離できます。

## 特長

ISOGEN II は従来法のようにクロロホルムを使用しません。  
その為、フェノール溶液として廃液を処理して頂けます。

## 操作フロー

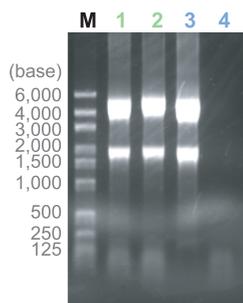


詳細は ホームページをご覧ください。  
<https://www.nippongene.com>

## Data 1 抽出した RNA の電気泳動

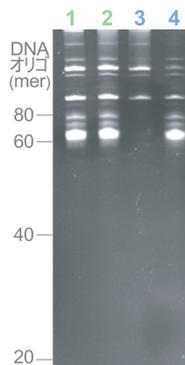
ISOGEN および ISOGEN II のプロトコールに従って RNA を抽出し、電気泳動を行った。

### アガロースゲル電気泳動



M : RNA Ladder (Code No. 311-06261)  
 Lane 1 : ISOGEN 抽出 total RNA (2 $\mu$ g)  
 Lane 2 : ISOGEN II 抽出 total RNA (2 $\mu$ g)  
 Lane 3 : ISOGEN II 抽出 高分子 RNA (2 $\mu$ g)  
 Lane 4 : ISOGEN II 抽出 small RNA (0.2 $\mu$ g)  
 1.2% Agarose S (ホルムアルデヒド変性)  
 EtBr 染色

### ポリアクリルアミドゲル電気泳動



DNA オリゴ (mer)  
 Lane 1 : ISOGEN 抽出 total RNA (5 $\mu$ g)  
 Lane 2 : ISOGEN II 抽出 total RNA (5 $\mu$ g)  
 Lane 3 : ISOGEN II 抽出 高分子 RNA (5 $\mu$ g)  
 Lane 4 : ISOGEN II 抽出 small RNA (0.5 $\mu$ g)  
 12% ポリアクリルアミドゲル (Urea 変性)  
 EtBr 染色

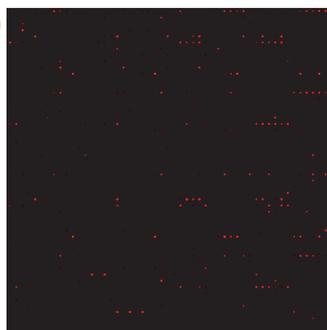
>>> Lane 1, 2 より **ISOGEN II は、ISOGEN と同等の total RNA が抽出できた。**  
 Lane 3, 4 より **ISOGEN II は、200 bases 以上の高分子 RNA と 10~200 bases の small RNA に分画できた。**

## Data 2 miRNA の検出

ISOGEN 及び ISOGEN II を用いて抽出した total RNA を、“3D-Gene” Human miRNA Oligo chip (東レ株式会社) にて解析した。

>>> **ISOGEN よりも ISOGEN II の方が miRNA を、より抽出できた。**

### ISOGEN



有効スポット数：638 miRNA

### ISOGEN II



有効スポット数：688 miRNA

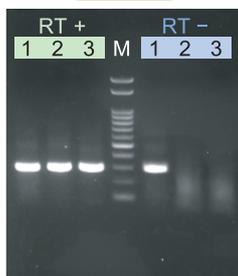
## Data 3 RT-PCR

ISOGEN 及び ISOGEN II を用いて HeLa 細胞から抽出した RNA を鋳型とし、RT-PCR で  $\beta$ -actin 遺伝子を検出した。同時に、RT 反応を行わないコントロール実験も行った。

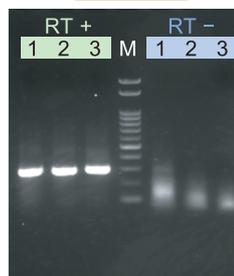
### PCR 条件

95 $^{\circ}$ C 5min.  
 95 $^{\circ}$ C 30sec. }  
 55 $^{\circ}$ C 30sec. }  
 72 $^{\circ}$ C 30sec. }  
 72 $^{\circ}$ C 5min. }  
 × 40 Cycles

### ISOGEN



### ISOGEN II



1 : 鋳型 RNA 量 500 ng  
 2 : 鋳型 RNA 量 100 ng  
 3 : 鋳型 RNA 量 20 ng  
 M : Gene Ladder 100  
 (Code No. 316-06951)

>>> **ISOGEN II で抽出した RNA は、ISOGEN で抽出した RNA に比べて DNA の混入量が少ないことが確認された。**

## Data 4 RNA 収量の目安

プロトコール「高分子 RNA の単離」および「total RNA の単離」で得られる RNA の収量の目安は次の通りであった。

試料		高分子 RNA の単離	total RNA の単離
組織	肝臓	5~7 $\mu$ g RNA/mg tissue	6~8 $\mu$ g RNA/mg tissue
	腎臓、脾臓	3~4 $\mu$ g RNA/mg tissue	3~4 $\mu$ g RNA/mg tissue
	骨格筋、脳、肺	0.5~1.5 $\mu$ g RNA/mg tissue	0.5~1.5 $\mu$ g RNA/mg tissue
	胎盤	1~3 $\mu$ g RNA/mg tissue	1~3 $\mu$ g RNA/mg tissue
培養細胞	上皮細胞	5~8 $\mu$ g RNA/10 <sup>6</sup> cells	5~10 $\mu$ g RNA/10 <sup>6</sup> cells
	繊維芽細胞	3~5 $\mu$ g RNA/10 <sup>6</sup> cells	4~6 $\mu$ g RNA/10 <sup>6</sup> cells

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山市間屋町二丁目7番18号  
 TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547  
 URL: <https://www.nippongene.com>

販売元 **富士フイルム 和光純薬株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)  
 フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806