

フェノクロ処理・エタ沈操作

フェノ・クロ処理

- 1) サンプルが 100ul 以下の場合、TE で 100ul に調整
↓
- 2) 等量のフェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール (PCI)を加える
↓
- 3) 30 秒, ボルテックス
↓
- 4) 室温、15000rpm、5min
↓
- 5) 水層（上層）を注意深く取り、別のチューブに移す
↓
- 6) 等量のクロロホルム：イソアミルアルコール（CIA）を加える
↓
- 7) 30 秒, ボルテックス
↓
- 8) 室温、15000rpm、5min
↓
- 9) 水層（上層）を注意深く取り、別のチューブに移す

エタノール沈殿

1) DNA/RNA 溶液	100 ul
3M NaOAc	10 ul
Glycogen	1 ul
<u>EtOH</u>	<u>250 ul</u>

この比率で混合

↓

2) ボルテックス

↓

3) 室温で 10 分放置 (ug オーダーの場合)
-20C, 1h (ng オーダーの場合)

↓

4) 4C、15000rpm、10min
(DNA/RNA 量が少ない場合、30min)

↓

5) 沈殿を乱さないようにアルコールを除去

↓

6) 70% EtOH を 1ml 加え、転倒混和
(RNA の場合、80% EtOH:DEPC DW を使用)

↓

8) 4C、15000rpm、2min

↓

9) 沈殿を乱さないようにアルコールを除去

↓

10) スピンドウンし、残っているアルコールを 10ul ピペットで除く

↓

11) 5分程度、風乾

*Glycogen solution: 10mg glycogen/1ml DW

イソプロピルアルコール沈殿

1) DNA 溶液に 1/10 量の 3M NaOAc を加える

↓

2) DNA 溶液と同量のイソプロピルアルコールを加える

↓

3) 以下の操作は、エタ沈と同じ