

商品名: DynaMarker® RNA Low II
商品コード: DM152
分子量範囲: 200 – 500 bases
容量: 50 μ g (72 μ l), 0.7 mg/ml

本製品は研究用試薬です

DynaMarker® RNA Low II は 7 種類の 1 本鎖 RNA で構成される RNA 分子量マーカーです。20、50 bases の RNA は化学合成 (リン酸化はされていない)、100、200、300、400、500 bases は *in vitro* 転写により合成されています。本製品は、変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動において 1 本鎖 RNA 分子量を決定することができます。また、各バンドの RNA は約 0.1 μ g/ μ l に調製されており、対比によりお手持ちの試料の RNA 量を概算することもできます。本製品はエチジウムブロマイド染色後、UV トランスイルミネーター上でバンドを確認することができます。

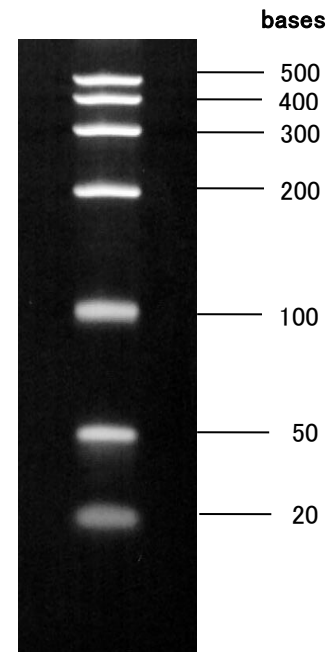
バッファー:
10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA

保存条件:
-80°C 保存
繰り返しの凍結融解は避けてください。

品質検査:
本製品を 37°C で 18 時間インキュベートした後、8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動において分解は認められません。

注意:

RNA はヌクレアーゼによる分解に対して大変センシティブです。ヌクレアーゼのコンタミを防ぐため、作業には最大限注意してください。実験用手袋を着用し、清潔な器具を使用してください。ガラス器具はあらかじめ DEPC 処理してください。もしくはヌクレアーゼフリーの使い捨てプラスチック器具のご使用をお勧めします。
RNA 試料およびマーカーを調製するための試薬はヌクレアーゼフリーで高グレードグレードのものをご使用ください。本製品は氷上で解凍し、使用中は氷上に置いてください。



DynaMarker® RNA Low II (0.7 μ g) の電気泳動像
ゲル: 8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミド
泳動バッファー: 1× TBE

推奨使用方法:

本製品は、変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動において 1 本鎖 RNA 分子量を決定するのに適しています。例として、8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミドゲルでの泳動方法を以下に示します。8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミドゲルを用いた場合、50～500 base の 1 本鎖 RNA を分離することができます。

1. 40 % acrylamide : bis solution の調製

Acrylamide	190 g
N, N-methylenebisacrylamide	10 g
超純水	500 ml にメスアップ

上記を混合した後、ニトロセルロースフィルター(孔径 0.45 μ m)でろ過します。

2. 8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミドゲルの作製 (20 ml)

40 % acrylamide : bis solution	2.5 ml
Urea	9.6 g
10 × TBE	2.0 ml
H ₂ O	20 ml にメスアップ

上記を混合して尿素が完全に溶解した後、20 μ l の TEMED と 160 μ l の 10 % ammonium persulfate を加え、すぐに混和してゲル作製プレートに注ぎます(20 ml で 7 cm × 8 cm、厚み 0.1 cm のゲルを 2 枚作製できます)。コームをセットし、ゲルが固まるまで静置します。泳動装置は製造元の手順書に従って組み立て、泳動バッファーとして 1 × TBE を準備します。

3. 泳動

5 μ l のゲルローディングバッファー*と 1 μ l (0.7 μ g)**の DynaMarker® RNA Low II または数 μ g の RNA 試料をチューブに混合します。80℃で 3 分間加熱し、すぐにチューブを氷上に移します。これを 8M 尿素含有 5%ポリアクリルアミドゲルのウェルにアプライし、電気泳動を開始し、Bromophenol blue が適切な位置まで移動した時点で泳動を止めます。ゲルプレートからゲルを取り出し、エチジウムブロマイド 10 μ g/ml を含む 1 × TBE バッファーで染色し、UV トランスイルミネーターでバンドを確認します。

*ゲルローディングバッファー

80 %	deionized formamide
0.025% (w/v)	bromophenol blue
0.025% (w/v)	xylene cyanol FF
10 mM	EDTA (pH8.0)

**記載した使用量はエチジウムブロマイド染色で十分に可視化できる量です。

参考文献:

Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.