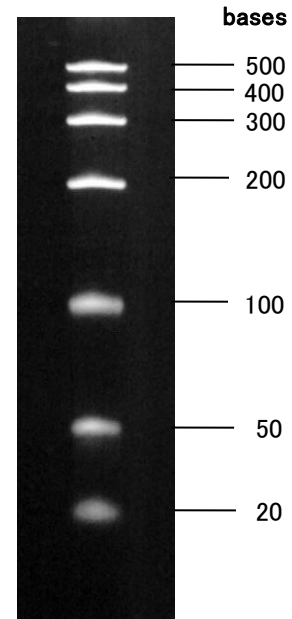


商品名: DynaMarker[®] RNA Low II Easy Load
商品コード: DM157
分子量範囲: 20–500 bases
容量: 125 μ l (約 25 ロード分)
推奨アプライ量 1 ロードあたり 5 μ l (各バンドの RNA は 0.1 μ g/5 μ l)

本製品は研究用試薬です

DynaMarker[®] RNA Low II Easy Load は RNA 分子量マーカー (DynaMarker[®] RNA Low II) に専用ローディングバッファー (Formamide、EDTA、BPB を含む) をプレミックスした製品です。変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動用に最適化されています。(注意: アガロースゲル電気泳動用ではありません。)

本製品は 7 種類の 1 本鎖 RNA で構成されています。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。また、本製品 5 μ l 中における各バンドの RNA は約 0.1 μ g に調製されており、対比によりお手持ちの試料の RNA 量を概算することができます。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。



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。

DynaMarker[®] RNA Low II Easy Load (5 μ l) 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

付属試薬: RNA Loading buffer PA

RNA Loading buffer PA は変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動用に調製されており、アガロースゲル電気泳動用ではありません。バッファー組成は 80 % Formamide、10 mM EDTA (pH8.0)、0.025 % Bromphenol blue です。-80°C で保管し、凍結融解を繰り返すことは避けてください。本試薬は 1 × ~ 2 × バッファーで、混合する RNA 試料の 1 倍量以上で使用してください。

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。熱変性する際は本製品の一部を別のチューブに移し、加熱します。熱変性を繰り返す行うことは避けてください。

※本製品に含まれるホルムアミドは目や皮膚に対する有害性が指摘されています。ご使用の際には適切な保護具を着用してください。また保管時にはしっかりと蓋を閉めて保管してください。

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、50～500base 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)。コーン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

以下のように RNA 試料(例: RNA 転写産物)と RNA Loading buffer PA を混合します。

RNA 試料	乾燥 RNA 試料または RNA 試料溶液 2 μ l (0.5～2 μ g)
RNA Loading buffer PA	5 μ l (RNA 試料の 1 倍量以上) 全量 5～7 μ l (チューブで混合する)

本製品の一部(5～10 μ l)をチューブに移します。本製品および RNA 試料と RNA Loading buffer PA の混合液をそれぞれ 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。ゲル板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。

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.

関連製品

DM170	DynaMarker® RNA High for Easy Electrophoresis
	200～8000 bases の天然 RNA で構成されている RNA 分子量マーカー ※非変性アガロースゲルで RNA の電気泳動を可能にする専用バッファーつき