

商品名: DynaMarker® RNA High
商品コード: DM160
分子量範囲: 200–8000 bases
容量: 50 μ g (56 μ l), 0.9 mg/ml

本製品は研究用試薬です

DynaMarker® RNA High は 9 種類の 1 本鎖 RNA で構成される RNA 分子量マーカーです。200～8000 bases の各バンドの RNA は *in vitro* 転写により合成されています。本製品は、変性アガロースゲル電気泳動において 1 本鎖 RNA の分子量を決定することができます。また、各バンドの RNA 量は約 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に UV トランスイルミネーター上で、または RNA を標識し、X 線フィルムに感光させること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

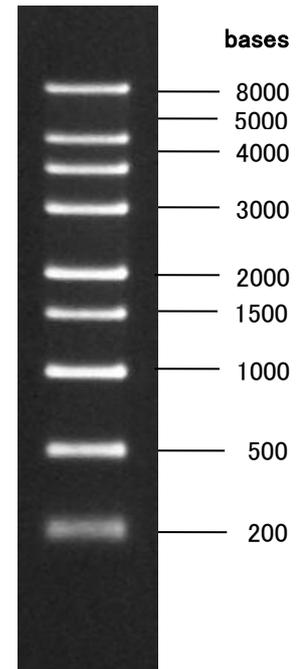
保存条件:
-80°C 保存
繰り返しの凍結融解は避けてください。

品質検査:
本製品を 37°C で 18 時間インキュベート後のホルムアルデヒド変性 1% アガロースゲル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 High (0.9 μ g) の電気泳動像
(ホルムアルデヒド変性 1% アガロースゲル)

推奨使用方法:

本製品は、変性アガロース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、ホルムアルデヒドを含む変性アガロースゲルでの泳動方法を以下に示します。

1. ホルムアルデヒド変性アガロースゲルの調製

フラスコに精製水 85ml とアガロース 1g を入れ、電子レンジでアガロースを溶解します。次に 10×MOPS バッファー* を 10 ml 加えます。フラスコ内の溶液が 55°C まで冷えたら、局所排気フード内にて 37 %ホルムアルデヒド溶液を 5.4 ml 加え、よく混ぜます。そして素早くアガロースゲル作製プレートに流し込みコームをセットします。ゲルが固まったら使用するまで 1×MOPS バッファーで表面を覆ってください。

濃ホルムアルデヒドは 37~40 % W/V (12.3M)濃度で、安定剤として 10~15 %のメタノールが含まれています。ホルムアルデヒド変性アガロースゲル作製用には 37 %濃度のホルムアルデヒドをご使用ください。例えばシグマアルドリッチ社から分子生物学用として 36.5~38 %濃度のホルムアルデヒドが提供されています。

*10×MOPS バッファー	0.2 M	MOPS
	20 mM	Sodium acetate
	10mM	EDTA (pH 8.0)

2. RNA の変性処理

下記のようにマイクロチューブ中で DynaMarker® RNA High または分析する RNA 試料を調製します。

DynaMarker® RNA High もしくは RNA 試料*	2 μl
10×MOPS バッファー	2 μl
37 % formaldehyde solution	4 μl
formamide	10 μl
200 μg/ml ethidium bromide	1 μl

上記を混合後、75°C、3 分間加熱し、すぐにチューブを氷上に移してください。

*RNA 必要量は実験により異なります。ノーザンハイブリダイゼーションには 15 μg 以上の RNA が必要です。また、エチジウムブロマイド染色にて UV トランスイルミネーター上で検出するためには 0.5~4 μl が必要です。

3. ローディングおよび電気泳動

各 RNA 溶液に 2 μl の 10×formaldehyde gel-loading buffer* を加え、チューブを氷上に戻します。作製したアガロースゲルを 1×MOPS バッファーを満たしたサブマリン型電気泳動装置にセットします。上記の変性させた RNA 溶液をウェルに流し込みすぐに電気泳動をスタートさせます。色素がゲルの適切な位置に到達したら電気泳動をストップし、UV トランスイルミネーター上で観察します。

10×formaldehyde gel-loading buffer	
50 %	glycerol
10 mM	EDTA (pH8.0)
0.025% (w/v)	bromophenol blue
0.025% (w/v)	xylene cyanol FF

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.