

商品名: DynaMarker® dsRNA
商品コード: DM180
分子量範囲: 10–1000 bp
容量: 25 μ g (100 μ l), 0.25 mg/ml

本製品は研究用試薬です

DynaMarker® dsRNA は 10 から 1000 bp の 10 種類の二本鎖 RNA で構成される、二本鎖 RNA 電気泳動用分子量マーカーです。20 bp の二本鎖 RNA バンドは約 25 ng/ μ l に調製されており、対比によりお手持ちの試料の二本鎖 RNA 量を概算することができます。本製品は非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動専用です。(注意: アガロースゲル電気泳動用ではありません。)。電気泳動後はエチジウムブロマイド染色により 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 7.5), 50 mM NaCl, 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。

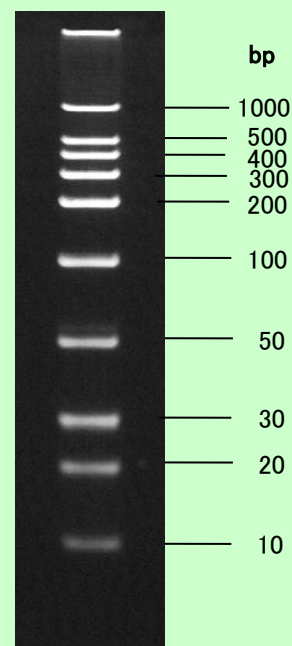
品質検査:

本製品を 37°C で 18 時間インキュベートした後、7.5% 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。

注意点:

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® dsRNA (0.5 μ g) の電気泳動像
ゲル: 7.5% 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、非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動において二本鎖 RNA の分子量を決定するのに適しています。例として、7.5%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。

1. 7.5%ポリアクリルアミドゲルの作製 (20 ml)

40 % acrylamide : bis solution (29:1)	3.75 ml
10 × TBE	2.0 ml
H ₂ O	20 ml にメスアップ

2. 上記を混合した後、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

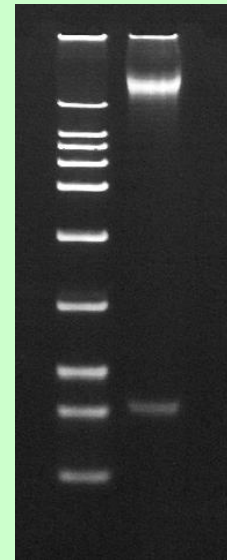
以下のように RNA 試料を調製します。

1) 分子量マーカー:

DynaMarker® dsRNA	2 μ l (0.5 μ g)
nuclease-free water	3 μ l
6 × Gel loading solution	1 μ l

2) 実験試料:

二本鎖 RNA 試料	5 μ l (50~500 ng)
6 × gel loading solution	1 μ l



左レーン: DynaMarker® dsRNA (0.5 μ g)
 右レーン: Dicer で分解した二本鎖 RNA
 (7.5 %ポリアクリルアミドゲル)

上記のように gel loading solution と DynaMarker® dsRNA または dsRNA 試料をチューブに混合します。これを 7.5%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。

4. Gel loading solution

以下のように調製し、非変性ポリアクリルアミド電気泳動に使用します。

例 1) 6 × gel loading solution

0.25(w/v) bromophenol blue
0.25 (w/v) xylene cyanol FF
30 % (v/v) glycerol in H ₂ O

例 2) 6 × gel loading solution

0.25 % (w/v) bromophenol blue
40 % (w/v) sucrose in H ₂ O

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.