

商品名： DynaMarker® Small RNA II Easy Load
コード番号： DM197
分子量範囲： 20–100 bases
容量： 25 loadings, 125 μ l
使用量： 1 ロードあたり 5 μ l を推奨

本製品は研究用試薬です

特徴：

DynaMarker® Small RNA II は 5 つの天然 RNA(ssRNA) から構成されています。20、30、40 および 50 bases の化学合成された RNA で (5' 末端リン酸基なし)、100 bases の RNA は *in vitro* 転写で合成されています。本製品はローディングバッファーと RNA 分子量マーカーがプレミックスされている、Ready-to-use 製品です。本マーカーは変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動における Small-size ssRNA の分子量の概算に適しています。また本マーカーはエチジウムブロマイド染色で検出可能です。

保存条件

–80 °C 繰り返しの凍結融解は避けてください。

品質検定：

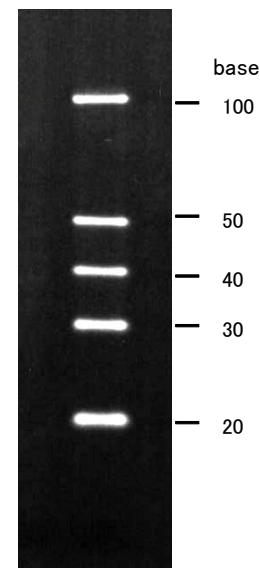
本マーカーを 37°C、18 時間インキュベートし、7.5M 尿素含有 12.5% アクリルアミドゲル電気泳動において分解が見られないことを確認しております。

付属試薬： RNA Loading buffer PA

RNA Loading buffer PA は尿素変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動用に調製されています。80%ホルムアミド、10mM EDTA (pH8.0)、0.025% BPB を含みます。本バッファーは–80°Cにて保存し、繰り返しの凍結融解は避けてください。本バッファーは 1× ~ 2× 溶液です。サンプル RNA 溶液と混合する場合は等量以上の容量をご使用ください。

注意：

- ・本マーカーでは RNA 量の概算はできません。
- ・本マーカーを用いた分子量の概算には 10–20% 尿素変性ポリアクリルアミドゲルをご使用ください。
- ・RNA はヌクレアーゼに対して大変センシティブです。マーカーを構成する RNA へのダメージを避けるため、作業中のヌクレアーゼのコンタミネーションには十分に気を付けてください。保護手袋および清潔な器具をご使用ください。ガラス器具については DEPC 処理をしてください。もしくは、ヌクレアーゼフリーのディスポーザブルのプラスチック器具をお勧めいたします。RNA 溶液と混合する試薬類は高純度でヌクレアーゼフリーグレードのものをご使用ください。本製品をご使用中は氷上で冷却を維持いただくようお願いします。
- 加熱処理する場合は必要量を小分けしてご使用ください。繰り返しの加熱変性処理は避けてください。
- ※ ホルムアミドは目や皮膚に対して有害性が指摘されています。適切な保護具をご使用ください。またキャップをきつく締めて保管してください。



DynaMarker® Small RNA II
 Easy Load

本製品の電気泳動象

7.5M 尿素含有 12.5% ポリアクリルアミドゲル / 1× TBE

推奨使用方法：

・本製品は 10–20%尿素変性ポリアクリルアミドゲルでの電気泳動用に作られています。推奨使用方法として 7.5M 尿素含有 12.5%ポリアクリルアミドゲルでの電気泳動方法を以下に示します。

・作業工程

1. 40%アクリルアミド:ビス溶液の調製

Acrylamide	190 g
N, N-methylenebisacrylamide	10 g
ddH ₂ O	to 500 ml

混合後、ニトロセルロースフィルター（ポアサイズ 0.45 μm）でろ過してください。

2. 7.5M 尿素含有 12.5%ポリアクリルアミドゲルの調製 (20 ml)

40 % acrylamide : bis solution	6.25 ml
Urea	9.0 g
10 × TBE	2.0 ml
H ₂ O	to 20 ml

尿素が完全に溶解した後、TEMED を 20 μl と 10%過硫酸アンモニウム(APS)を 160 μl 添加し、素早く混合してください。その後、アクリルアミドゲル作製のガラスプレート(8.7 cm × 6.8 cm, 厚さ 1 mm) に流し込み、コームをセットします。ゲルが固まったのち、電気泳動槽にセットし 1 × TBE で電気泳動槽を満たします。

3. ローディングと電気泳動

RNA サンプル(RNA 転写反応サンプルなど)と RNA Loading buffer PA の混合

RNA サンプル	乾燥ペレット もしくは 溶液 2 μl (0.5–2 μl)
RNA Loading buffer PA	5 μl -- RNA サンプル溶液と等量以上

マイクロチューブ内にて混合、トータル 5–7 μl

本製品適当量(5–10 μl) をマイクロチューブに移します。上記 RNA サンプルと RNA Loading buffer PA の混合溶液を 80°C で 5 分間加熱処理後、素早く氷上に移します。先ほど準備した尿素変性アクリルアミドゲルのウェルにロードし電気泳動をスタートさせます。BPB 色素が適切な位置に来たら電気泳動を停止します。ガラスプレートから注意深く取り出し、1.0 μg/ml 濃度のエチジウムブロマイド/1 × TBE 溶液中で染色します。染色した RNA は UV トランスイルミネーター上で観察できます。

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

DM253	DynaMarker® Prestain Marker for Small RNA Plus 20～100 bases の RNA 用プレステイン分子量マーカー
DM270	DynaMarker® DIG Labeled Blue Color Marker for Small RNA 20～100 bases の RNA 用 DIG 標識プレステイン分子量マーカー