

商品名 : RNA Ezloading Dye/Marker Set
(旧製品名: DynaMarker® RNA High for Easy Electrophoresis)

商品コード : DM170 この製品は研究用です。
コンポーネント:

Code No.	コンポーネント	組成	容量
DM160	DynaMarker® RNA High 保存条件: -80 °C ※繰り返しの凍結融解は避けてください	構成する RNA は in vitro transcription により作製。 ※分子量レンジ: 200–8,000 bases	50 ug, 0.9mg/ml およそ 50 回分
DM172	RNA Ezloading Dye (2X) (旧製品名: RNA loading buffer AG+) 保存条件: -20°C以下	Formamide, Ethidium Bromide, Bromophenol blue, バッファー成分	1 ml

† 製品中にホルムアルデヒドは含まれておりません。

特徴 :

本キットを使うことにより、非変性アガロースゲルを用いて RNA を電気泳動することができ、さらに付属の分子量マーカーでサンプル RNA のサイズを推測できます。

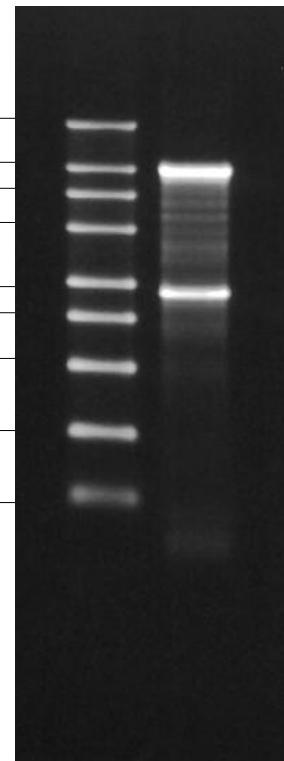
本キットの使用方法は、付属の RNA Ezloading Dye にホルムアルデヒドを添加(本キットにはホルムアルデヒドは付属しておりません)し、DynaMarker® RNA High およびお手持ちの RNA サンプルと混合・加熱処理するだけです。

・RNA Ezloading Dye (2X)は変性アガロースゲルだけでなく、非変性アガロースゲルで RNA を電気泳動するためのローディングバッファーです。本バッファーを用いて電気泳動することにより、泳動後エチジウムプロマイドで染色しなくとも UV トランスイルミネーター上で RNA バンドを確認することができます。

・DynaMarker® RNA High は 200~8,000 bases の 9 本の RNA バンドから構成されており、バンドあたり 0.1 ug/ul となるように調製されています。

base

8,000
5,000
4,000
3,000
2,000
1,500
1,000
500
200



DynaMarker® RNA High の電気泳動像
(ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル)
左レーン : DynaMarker® RNA High (0.45 μg)
右レーン : Human Total RNA (0.4 μg)

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のものをご使用ください。DynaMarker® RNA High は解凍後、速やかに氷上に置いてください。また RNA Ezloading Dye を使用中は氷上に置いてください。

本製品は非変性アガロースゲルを用いて電気泳動できるよう調製されておりますが、厳密な実験を行う場合には変性アガロースゲル電気泳動についてもご検討ください。

*ホルムアミドには目や皮膚に対して有害性が指摘されています。エチジウムプロマイドは変異原性物質であり、毒性が疑われます。ホルムアミドや臭化エチジウムを含む溶液を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。

*ホルムアルデヒドは発がん性物質です。蒸気を吸い込まないでください。また取り扱いには適切な保護具をご使用ください。ホルムアルデヒドを含むゲルの取り扱いは局所排気フード内で行ってください。

推奨使用方法 :

本製品を使用することで、変性アガロースゲルだけでなく、非変性アガロースゲル(TAE もしくは TBE バッファー)でも電気泳動が可能です。RNA サイズを厳密に決めるには、変性アガロースゲルでの電気泳動が必要な場合があります。

＜ 非変性アガロースゲルでの電気泳動 ＞

1. 非変性アガロースゲルの調製

フラスコに 100ml の 1×TAE バッファーおよび 1g のアガロースを加え、電子レンジにて融解させます。よく攪拌させた後、素早くアガロースゲル作製用トレイに流し込みコームをセットします。

2. 次の通りホルムアルデヒド添加 RNA Ezloading Dye を調製します。

例	RNA Ezloading Dye (2X)	19 µl
	<u>37 % formaldehyde solution</u>	1 µl
	ホルムアルデヒド添加 RNA Ezloading Dye*	20 µl

*ホルムアルデヒドを加えた後の RNA Ezloading Dye は不安定のため調製後 6 時間以内にご使用ください。

RNA Ezloading Dye 調製用には 37%濃度のホルムアルデヒドをご使用ください。

3. RNA の変性処理

ホルムアルデヒド添加 RNA loading Dye と等量、またはそれ以下の容量のサンプルを混合します。

例	DynaMarker® RNA High もしくは RNA サンプル	X µl *
	formaldehyde-added RNA Ezloading Dye**	2.5 µl***
	<u>ddH₂O</u>	to 5 µl
		5 µl **

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。ホルムアルデヒド添加 RNA Ezloading Dye 処理により、UV 照射下でゲル中の 0.05 µg の RNA バンドを検出できます。

** ホルムアルデヒド添加 RNA Ezloading Dye および RNA サンプルの混合溶液は不安定です。速やかにご使用ください。

***特に RNA 量を概算する場合においては電気泳動するすべての RNA サンプルに同量の RNA loading buffer を加えることが大切です。

4. ローディングおよび電気泳動

作製したアガロースゲルを 1×TAE 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。DNA を電気泳動する場合と同様に、上記の変性させた RNA 溶液をウエ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。

< 変性アガロースゲルでの電気泳動 >

1. 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×MESA 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×MESA 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)濃度です。

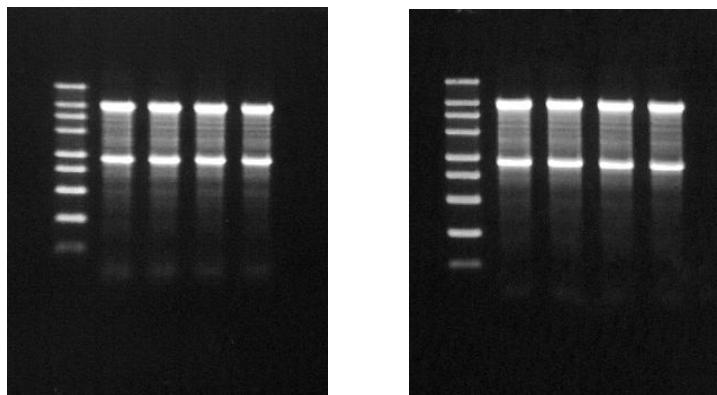
2. ホルムアルデヒド添加 RNA Ezloading Dye の調製(上記<非変性アガロースゲルでの電気泳動>と同様に行います)

3. RNA の変性処理(上記<非変性アガロースゲルでの電気泳動>と同様に行います)

4. ローディングおよび電気泳動

作製したアガロースゲルを 1×MESA 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 溶液をウエ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ます。RNA バンドを UV トランスイルミネーター上で観察します。

電気泳動像



変性アガロースゲル

非変性アガロースゲル

RNA は変性ゲルと非変性ゲルで同様に泳動された。

DynaMarker® RNA High もしくは Human Total RNA をホルムアルデヒド含有 RNA Ezloading Dye で処理した。

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

DM260	DynaMarker® Prestain Marker for RNA High 200~8000 bases の RNA 用プレステイン分子量マーカー
DM152	DynaMarker® RNA Low II 20~500 bases の天然 RNA で構成されている RNA 分子量マーカー