

商品名： DynaMarker® Prestain Marker for Small RNA Plus

商品コード： DM253

分子量範囲： 20 – 100 bases

内容量： 150 µl (30 ロード分)

保存温度： -20 °C

特徴：

本マーカーは 6 つの色素修飾された一本鎖核酸から構成されます(見かけ分子量は 20、30、40、50、75、100 bases)。尿素変性アクリルアミドゲルにおける電気泳動のモニタリングやノーザンブロットングにおけるメンブレンへの転写効率の確認に最適です。

マーカーを構成する 6 つの色素修飾核酸バンドはそれぞれ 20、30、40、50、75、100 bases の天然 RNA の移動度と 95%の精度で一致します(表 1、図 2 を参照)。

本マーカーはそのまま使用できる、ready-to-use 製品です。加熱処理や変性剤の添加は必要ありません。



DynaMarker® Prestain Marker for Small RNA Plus

図 1. 本製品の電気泳動象 (5 µl)
10 % polyacrylamide – 7.5 M urea gel
/ 1 × TBE buffer

保存バッファー組成:

2 mM Tris-HCl (pH 8.0), 8 mM EDTA, 78% Formamide

品質検定:

本マーカーを 37°C、24 時間インキュベートし、7.5M 尿素含有 10%アクリルアミドゲル電気泳動にて分解が見られないことを確認しております。

使用量：

| ウェル幅 | 使用量 |
|---------|---------|
| 4-10 mm | 5-10 µl |
| >10 mm | >10 µl |

注意：

- ・ 電気泳動による、より精度の高い分子量の概算には天然 RNA マーカーの DynaMarker® Small RNA II (code # DM192) or DynaMarker® Small RNA II Easy Load (code # DM197)をご使用ください。
- ・ 本製品の見かけ分子量は 10~15%アクリルアミドゲルにおいてよく一致するように最適化されています(表 1 を参照)。
- ・ **本マーカーは尿素変性アクリルアミドゲル専用です。変性アガロースではご使用いただけません。**

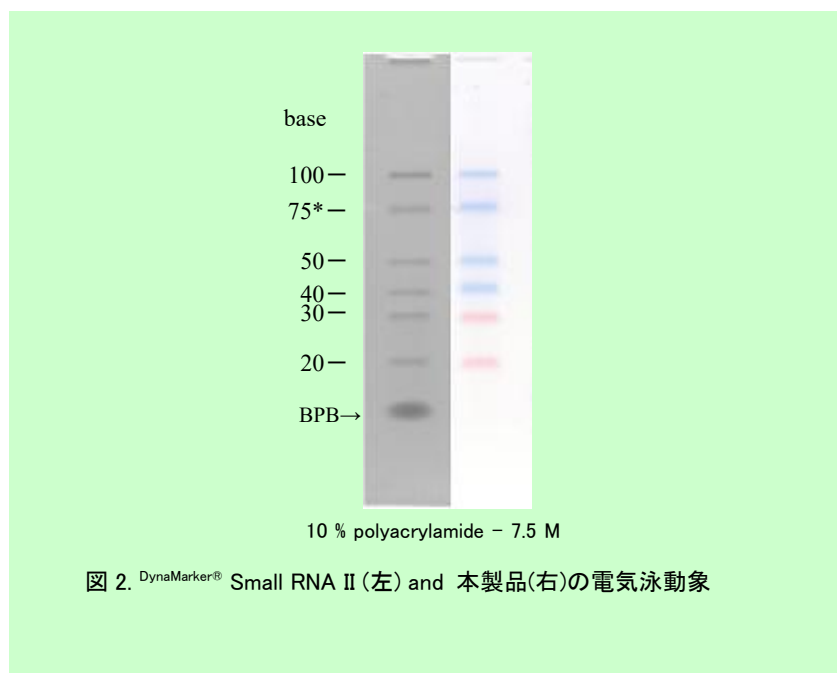
| | | acrylamide concentration | | | | | | (condition: acrylamide:bis = 29:1, 1 × TBE) |
|---|----------|--------------------------|-------|-------|--------|-------|--------|---|
| | | 5.0 % | 7.5 % | 10 % | 12.5 % | 15 % | 17.5 % | 20 % |
| DynaMarker Small RNA II + 75 base RNA | 100 base | 105.6 % | 105.6 | 101.6 | 98.4 | 97.2 | 93.6 | 92.6 |
| | 75* | 106.2 | 104.7 | 103.5 | 99.5 | 98.5 | 94.7 | 92.4 |
| | 50 | 101.4 | 101.4 | 101.1 | 98.7 | 97.5 | 95.0 | 92.2 |
| | 40 | 103.1 | 102.0 | 103.2 | 100.8 | 100.0 | 97.4 | 93.9 |
| | 30 | 91.0 | 96.9 | 98.2 | 98.9 | 99.2 | 99.5 | 98.8 |
| | 20 | 89.8 | 95.8 | 98.2 | 100.3 | 101.6 | 101.4 | 101.4 |
| | | | | | | | | |

表 1: DynaMarker® Small RNA II との移動度一致率

DynaMarker® Prestain Marker for Small RNA Plus の泳動に適しているアクリルアミドゲル濃を表している。

■: 推奨 ■: 可能

(*75 base RNA は DynaMarker® Small RNA II に後から添加。DynaMarker® Small RNA II の製品には含まれておりません。)



推奨使用方法:

本マーカーは尿素変性アクリルアミドゲルにおける電気泳動のモニタリングやノーザンブロットング時のメンブレンへの転写効率の確認に適しています。以下に一例を示します。

・電気泳動およびメンブレンへのトランスファー

1) 7.5M 尿素含有 10%ポリアクリルアミドゲルの調製

| | |
|--------------------------------|----------|
| 40 % acrylamide : bis solution | 5.0 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ら、TEMED を 20 μ l および 10%過硫酸アンモニウム(10% APS)を 160 μ l 添加し速やかに混合します。その溶液をスラブゲルガラスプレート間に流し込み、コームをセットします。

2) 電気泳動

ご使用前に本製品が完全に融解していることを確認してください。

変性処理したお手持ちの RNA サンプルおよび本製品を 5 μ l アプライします。そして 1 × TBE にて 20～40 V/cm の電圧で泳動を行います。ミニゲル(8～10cm)では 200V 程度を推奨します。

3) メンブレンへの転写

- 3-1) ポジティブチャージナイロンメンブレンおよび複数枚のブロットングペーパーをアクリルアミドゲルよりも少し大きめに用意し、0.5 × TBE に浸します。
- 3-2) ブロットングペーパー2 枚をブロットング装置の陽極側に置きます。
- 3-3) ブロットングペーパーの上にナイロンメンブレンを重ねます。
- 3-4) メンブレンの上に泳動したアクリルアミドゲルを載せます。その際、メンブレンとゲルの間の気泡を上から押さえつけるようにして押し出します。
- 3-5) ブロットングペーパー2 枚をゲルの上に載せ、ブロットング装置の陰極をセットします。
- 3-6) 2 mA/cm² で 30～60 分通電します。
- 3-7) マーカーがメンブレンへ転写されていることを確認したのち、メンブレンを 2 × SSC バッファーで洗浄します。
- 3-8) UV クロスリンカーで RNA をメンブレンに固定します。
- 3-9) マーカーレーンを切り取ります。
- 3-10)ノーザンハイブリダイゼーション実験を行います。

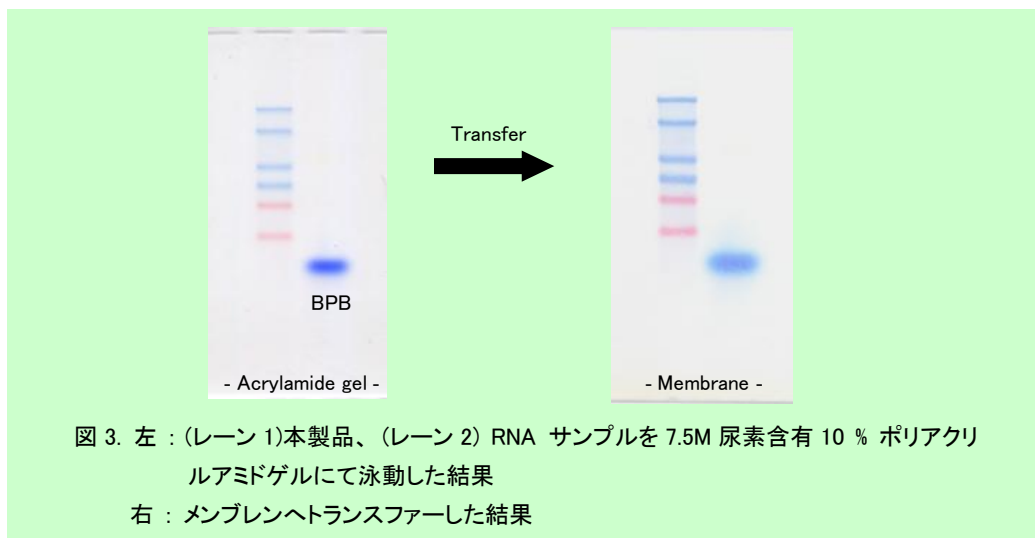


図 3. 左 : (レーン 1)本製品、(レーン 2) RNA サンプルを 7.5M 尿素含有 10 % ポリアクリルアミドゲルにて泳動した結果
右 : メンブレンへトランスファーした結果

参考文献：

- Joseph Sambrook, and David W. Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Frederick M. Ausubel, Roger Brent, Robert E. Kingston, David D. Moore, J. G. Seidman, John A. Smith, and Kevin Struhl (1994—) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc.

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 |
| DM192 | DynaMarker® Small RNA II 20～100 bases の天然 RNA で構成されている RNA 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 |
| DM170 | RNA Ezloading Dye/Marker Set RNA 分子量マーカー(200～8,000 bases)と RNA Ezloading Dye (2X)からなり、変性アガロースゲルのみならず非変性アガロースゲルでの電気泳動が可能。 |
| DM660 | DynaMarker® Protein MultiColor Stable II 4℃保存可能な着色済みタンパク質分子量マーカー |
| DS230 | DynaCompetent® Cells JetGiga DH5 α 分注可能・迅速操作・高形質転換効率のクローニング用コンピテントセル お好みの容量に分注・再凍結して使用可能 |