

商品名： DynaMarker® Prestain Marker for RNA High

商品コード： DM260

分子量範囲： 200 – 8,000 bases

内容量： 180 µl (30 回分)

保存温度： -80 °C

特徴：

本製品は一本鎖 RNA 用の着色済み分子量マーカーで、青または紫色色素を修飾した 6 つの核酸バンド(見かけ分子量は 200、500、1,000、2,000、4,000、8,000 bases)から成っています。変性アガロースゲル電気泳動のモニタリングやメンブレンへのトランスファー効率の確認に適しています。

本製品は変性アガロースゲル電気泳動において DynaMarker® RNA High (商品コード DM160)と同じ移動度になるように調製されています(正確性>90%。表 1 および図 2 をご参照ください)。

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。

base

8,000—

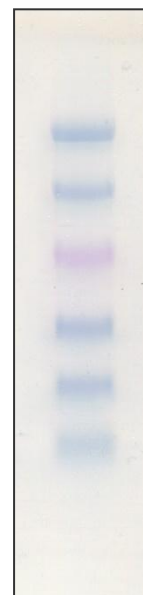
4,000—

2,000—

1,000—

500—

200—



DynaMarker® Prestain Marker for RNA High

図 1. 本製品の電気泳動象 (6 µl)

1 % agarose – 2.2 M formaldehyde gel / 1 × MOPS

保存バッファー組成：

40 mM MOPS (pH 7.0), 10 mM AcONa, 1 mM EDTA・2Na,
10 % Glycerol

品質検定：

本マーカーを 37°C、24 時間インキュベートし、2.2 M ホルムアルデヒド含有 1%アガロース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：

ウエル幅	使用量
4～6 mm	4～6 µl
>6 mm	>6 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® RNA High (code # DM160) もしくは RNA Ezloading Dye/Marker Set (code # DM170)をご使用ください。
- 本製品の見かけ分子量は 0.8～1.5%ホルムアルデヒド変性アガロース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)。
- 本マーカーはホルムアルデヒド変性アガロースゲル専用です。変性アクリルアミドゲルではご使用いただけません。**
- 凍結融解は避けてください。

		concentration of agarose		
		0.8 %	1.0 %	1.5 %
RNA High	8000 base	96.5	94.8	90.4
	4000	98.5	100.0	92.2
	2000	104.4	102.8	101.6
	1000	103.4	103.2	101.4
	500	106.4	102.0	103.1
	200	102.7	100.0	108.7

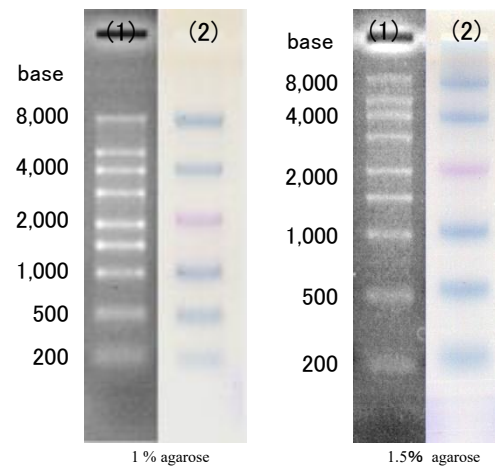


表 1: 本製品見かけ分子量の DynaMarker® RNA High (DM160)との一致率

図 2: DynaMarker® RNA High (1)と本製品(2)の電気泳動象

推奨使用方法：

本マーカーはホルムアルデヒド変性アガロースゲル電気泳動のモニタリングやノーザンブロットイ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転写

1) 2.2M ホルムアルデヒド含有 0.8%アガロースゲルの調製

Agarose	0.8 g
10 × MOPS	10 ml
deionized formaldehyde	18 ml
RNase free water	72 ml
total	100 ml

RNase free water にアガロースを加え、電子レンジで加熱し融解させます。55℃程度まで冷えたら 10×MOPS を 10 ml、ホルムアルデヒドを 18 ml 加えよく攪拌します。ドラフト内で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。ゲルが固まったらコームを抜き、ゲルを電気泳動槽にセットした後、1×MOPS バッファーをゲルが十分に浸るまで注ぎます。

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 6μl アプライ(ウエル幅 4~6mm の場合)します。

そして 1×MOPS 泳動バッファーにて 4~5 V/cm の電圧で泳動を行います。

3) ポジティブチャージナイロンメンブレンへの転写

- 3-1) RNase free 処理をしたトレーにゲルを移し、脱イオン水にて数回リンスします(ホルムアルデヒドの除去を目的として)。
- 3-2) ゲル容積に対して 10 倍容量の 3 M NaCl / 10 mM NaOH (トランスファーバッファー) に 30 分間浸します。
- 3-3) 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キ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、10×SSC に 5 分以上浸します。
- 3-4) キャピラリー方式の転写装置(図 3)において、サポートの土台をトレーに置き、十分なトランスファーバッファーを注ぎます。
- 3-5) サポート中央にブロッキングペーパー、ゲルの順に置きます。(ゲルは裏返して置きます)
- 3-6) ゲルの上にナイロンメンブレンを重ねます。その際ゲルとメンブレンの間に気泡が入らないように注意してください。
- 3-7) ナイロンメンブレンの上に浸したブロッキングペーパーを気泡が入らないように重ねます。
- 3-8) 適当な大きさにカットしたペーパータオルをブロッキングペーパーの上に 5~8cm の高さになるように重ねます。
- 3-9) ペーパータオルの上にガラスプレートを載せ、その上に適当な重し(400g 程度)を載せます。
- 3-10) 1 時間ほどトランスファーします。
- 3-11) メンブレンを 6×SSC で 5 分間リンスします。
- 3-12) 6×バッファー中からメンブレンを取り出し、ブロッキングペーパー上で過剰のバッファーを除去後、数分間乾燥します。
- 3-13) UV クロスリンカーで RNA をメンブレンに固定します。
- 3-14) マーカーレーンを切り取ります。
- 3-15) ノーザンハイブリダイゼーション実験を行います。

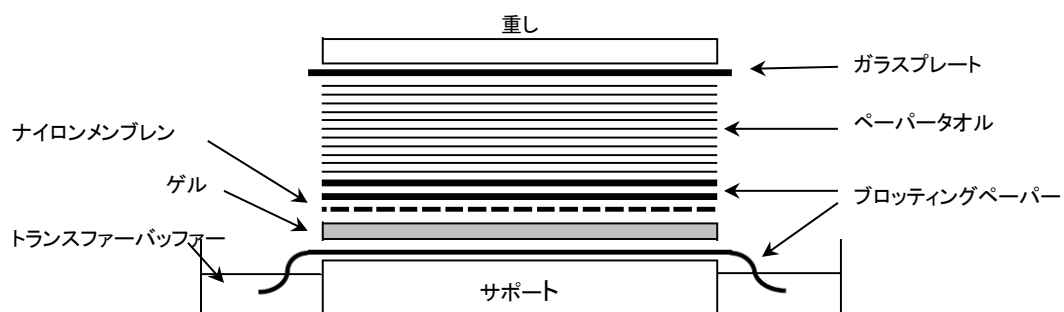


図 3: キャピラリートランスファー模式図

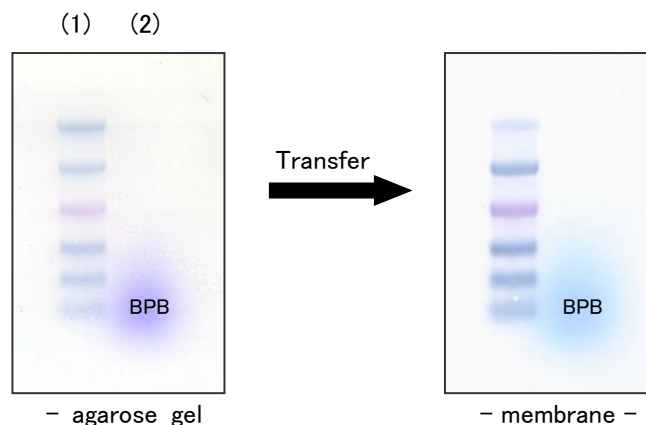


図 4: 左: 本製品 (1) and RNA サンプル (2) をホルムアルデヒド変性 0.8 % アガロースゲルにて電気泳動した結果
 右: メンブレンへトランスファーした結果

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

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
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