

**商品名:** DynaMarker® dsRNA Easy Load  
**商品コード:** DM185  
**分子量範囲:** 10-1000 bp  
**容量:** 125  $\mu$ l (25 ロード分)  
**推奨アプライ量:** 1 ロードあたり 5  $\mu$ l

本製品は研究用試薬です

DynaMarker® dsRNA Easy Load は二本鎖 RNA 分子量マーカー(DynaMarker® dsRNA)に専用ローディングバッファー(Tris-HCl, glycerol, EDTA, sodium chloride, BPB を含む)をプレミックスした製品です。10 から 1000bp 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。また本製品を 5  $\mu$ l 泳動した場合、20 bp の二本鎖 RNA バンドは約 50 ng になるように調製されており、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。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。

**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。

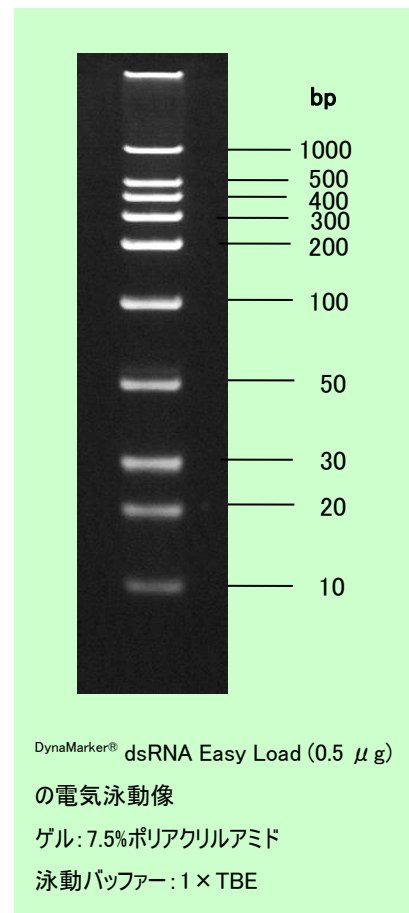
**付属試薬:** 6 × dsRNA Loading Buffer

6 × dsRNA Loading Buffer は非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動用に調製されており、アガロースゲル電気泳動用ではありません。本試薬に対して 5 倍量の dsRNA 試料を混合して使用します。また、本試薬は、RNase フリーで、Tris-HCl (pH7.5)、glycerol, EDTA, sodium chloride, Bromphenol blue を含みます。-20°C もしくは -80°C で保管してください。

**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。



### 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
H2O	20 ml にメスアップ
  
2. 上記を混合した後、20  $\mu$ l の TEMED と 160  $\mu$ 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。

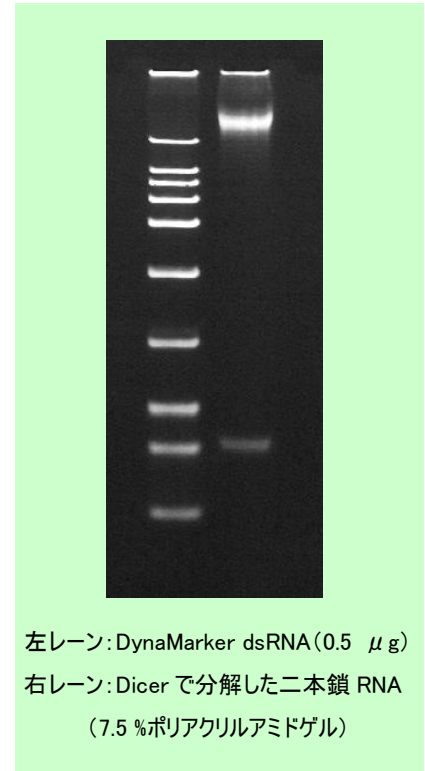
### 3. 泳動

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 Easy Load	5 $\mu$ l
-----------------------------	-----------
- 2) 実験試料:
 

二本鎖 RNA 試料	X $\mu$ l (50~500 ng)
Nuclease-free water	4-X $\mu$ l
6 × dsRNA Loading Buffer	1 $\mu$ l
計 5 $\mu$ l	



上記のように 6 × dsRNA Loading Buffer と 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  $\mu$ 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。

### 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.