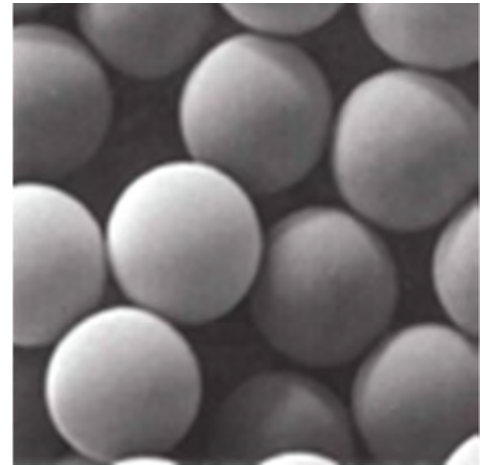


たった15分間でmRNAを単離できる

# Dynabeads™ mRNAシリーズ

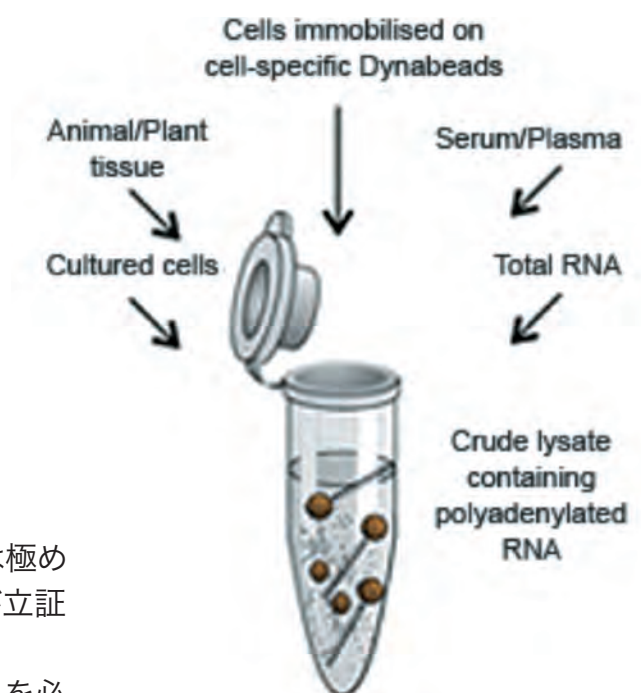
Dynabeads mRNA精製法は、幅広い用途に使用でき、短時間で安定した結果を得られることから既に5,000件以上の学術論文に引用されています。

Oligo(dT)<sub>25</sub>をコーティングした Dynabeads mRNAシリーズによってmRNAの単離が15分で完了します。mRNAは、Total RNAのうちわずか1~5%です。Dynabeads mRNAシリーズは、mRNA分子のみを標的とするため、Total RNA精製を必要とせず、リボソームRNA、tRNA、miRNA、siRNA、non-Poly-A RNAおよびRNA前駆体などのコンタミネーションのないトランスクリプトームを直接単離できます。



## 特長

- mRNAを直接単離  
シングルセルからの  
トランスクリプトーム解析可
- カラムフリーシステム  
強い遠心によるmRNAのロスがない
- mRNAトランスクリプトームの溶出不要  
Dynabeadsは酵素反応を阻害しません



Dynabeads mRNA シリーズを用いたmRNA 単離法は極めて万能で、高感度且つ信頼性の高い方法であることが立証されています。

安定して高感度に単離された極めて高純度の mRNA を必要とする全てのアプリケーションの上流として好んで選択されます。

次世代シーケンシングのための mRNA トランスクリプトーム単離や cDNA 合成およびクローニングのためのシンプルな mRNA 単離に興味があるなら、Dynabeads mRNA シリーズは ultra-pure で再現性の高い mRNA トランスクリプトームを提供します。

# 再利用可能なcDNAライブラリの作成

Dynabeads mRNA シリーズを用いて mRNA を分離した場合、cDNA 増幅、cDNA クローン、RACE 実験、およびサブトラクション法に用いるための cDNA ライブラリが容易に構築できます。

- 高品質で完全長のmRNAを単離できます
- 優れた感受性により、単一細胞からでもライブラリを作製できます
- 単離したmRNAは逆転写用にすぐに使用できます
- 酵素を使用したアプリケーションはDynabeadsによって阻害されることはありません
- Dynabeadsはすべての逆転写で利用できます
- 構築された固相cDNAライブラリは非常に安定で、2-8°Cで保存でき、再利用可能です
- PCR-増幅、cDNAクローン、RACE、およびサブトラクションのための最適なテンプレートです

## 固相cDNA合成

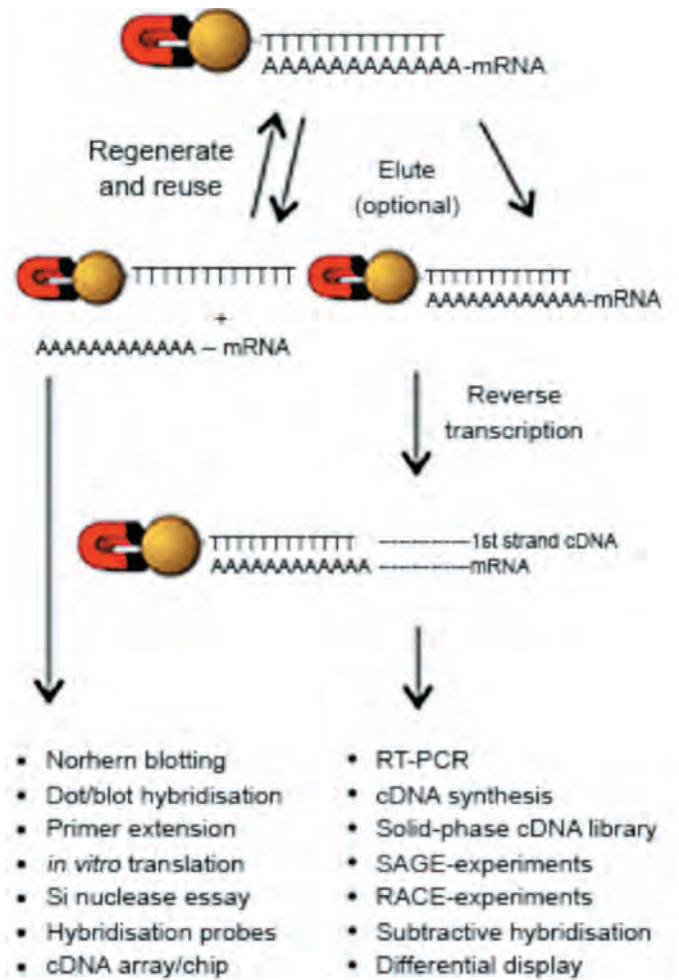
まずDynabeads mRNAシリーズを用いて mRNAをDynabeads上に単離します。次いでmRNAとDynabeadsをまとめて直接逆転写反応にかけます。するとDynabeadsに結合したオリゴdT残基がプライマーとして作用して、一本鎖cDNA合成が開始されます。操作は、全て固相を使用するため、バッファーを迅速かつ効率的に交換することができます。

## 再利用可能なcDNAライブラリ

Dynabeads 上に共有結合した cDNA ライブラリは安定していて、繰り返し利用することが可能です (PCR- 増幅、cDNA クローン、RACE、およびサブトラクション等)。マグネットにより Dynabeads-cDNA ライブラリを分離し、右の実験に用いることができます。

特許取得済みのDynabeads固相cDNA合成法には、市販のcDNAキットがご利用いただけます。

The use of Dynabeads® Oligo(dT)25 for capture of mRNA for cDNA synthesis and/or subtractive cloning is covered by the patent "Process for producing" cDNA (WO9006044, EPO444119, AT122721T, DE68922743T, DE68922743D, CA2003500, AU627815, US5759820 and JP2960776B2).



## FAQ

Q. Dynabeads の特性および利点とは何か？

A. マグネットに近づけると、Dynabeadsは超常磁性となり、磁気特性を示します。マグネットが遠ざかるとDynabeads磁気特性を失い、容易に溶液中に分散する。細胞分離において、この特性は明確な利点となり、細胞への応力を軽減することができる。さらにDynabeadsの滑らかな表面により、非特異吸着が少ない。これらの特性により、細胞、RNA、DNA、たんぱく質及びその複合体、小器官、エキソソームなど分離・解析において信頼性及び再現性がある結果を得ることができる。

Q. Dynabeads mRNAシリーズの濃度(ビーズの個数/mL)はどのくらいですか?

A. およそ $3.3 \times 10^8$  個/mLです。

Q. Dynabeads mRNAを用いたmRNA単離法と従来法の違いは?

A. Dynabeads mRNAを用いたmRNAの単離は、わずかなステップで、サンプルの劣化及びロスを最小限に抑えられます。磁気分離法により従来法のような遠心分離及びエタノール沈殿を必要とせず、フェノール-クロロホルム抽出も必要としません。mRNAをサンプルから直接単離できるため、total RNA調製も必要とせず、バッファーの変更等もマグネットを用いることで容易におこなえます。

Q. Dynabeads mRNAを用いたRNA単離操作の時間は?

A. mRNAの単離に要する時間は約15分です。

Q. total RNAから期待されるmRNAの収量は?

A. 通常mRNAの収率はtotal RNAの1 ~ 3%です。(100  $\mu$ g のtotal RNAから1 ~ 3  $\mu$ gのmRNAが期待できます)

Q. 単離したmRNA量の測定は?

A. OD値を用いて単離されたmRNA濃度を測定するためには、DynabeadsからmRNAを溶出する必要があります。Dynabeadsの存在は測定値に影響を与えることが予想されるので、測定溶液中にDynabeadsが残らないように注意してください。

Q. Agilent Bioanalyzer を用いて単離されたmRNAの測定は?

A. できます。単離されたmRNAの濃度を測定する前にDynabeadsからmRNAを溶出する必要があります。

Q. 凍結させたDynabeadsは使用できるか?

A. 一度凍結させてしまったDynabeadsの使用は推奨していません。凍結によって皮膜に亀裂が入り磁性体が放出されることがあります。凍結/融解を繰り返すとより亀裂は大きくなると考えられるので凍結保存はしないでください。緩衝液に十分に浸かった状態で冷蔵保存(2-8°C)してください(乾燥はパフォーマンスを低下させます)。

Q. Dynabeads mRNAによってプラスミドも共単離される?

A. プラスミドはmRNA単離の洗浄工程で除去されるはずですが、しかしながら、PolyA領域が組み込まれたプラスミドであればDynabeads mRNA上のOligo(dT)<sub>25</sub>とハイブリッドして、結果としてプラスミドの共単離が生じると考えられます。

Q. Dynabeads mRNA isolation kits に含まれる Lysis/Binding Buffer を用いてライセートを保存できますか?

A. はい。-20°Cで数ヶ月保存できます。

Q. Dynabeads mRNAを用いて植物からmRNAの単離は?

A. できます。しかし、いくつかの考慮しなければならない点があります。植物細胞は、硬い細胞壁によって囲まれていて、これにより完全な細胞溶解が困難です。この為、植物を材料とする場合、細胞溶解には、Dynabeads mRNA Direct kit の添付文書に記載されるより多くの操作が必要となる可能性があります。さらに植物のどの部分から mRNA を単離するかにより、含まれるデンプンにより mRNA の単離が妨げられる可能性があります。必要とする純度及び収量に応じて total RNA を調製してから mRNA を単離するか、直接単離するか検討してください。

Q. Dynabeads mRNAを用いてバクテリアからRNAを単離できる？

A. 通常、原核生物のmRNAはpoly A領域を含んでいないのでDynabeads mRNAを用いて単離することはできません。polyadenylate bacterial polysomesをDynabeads mRNAを用いて単離した例があります。

Q. Dynabeads mRNAではなぜLiClとLiDSを推奨するのか？

A. mRNAがDynabeads mRNA上のOligo(dT)<sub>25</sub>にアニールすることを確実にするために、LiClを推奨しています。LiClを使うことの利点は他の塩類と異なりDNA、タンパク質または炭水化物を沈殿させず、コンタミのリスクを減らせるということです。LiDSはイオン性界面活性剤です。主な機能という点ではSDSと同様です。加えてLiDSはRNase阻害剤としての機能も持っています。LiDSの代わりにSDSを使うこともできますがその場合にはRNase阻害剤を併用してください。

Q. 推奨されるLysis/Binding Bufferに代わってGTCバッファーを利用できる？

A. 利用できます。GTC(Guanidinium Thiocyanate)バッファーも用いることができますが、ライセートの粘性を下げるために希釈する必要があります。

Q. 組織からDynabeads mRNAを用いてmRNAを単離しようとしていますが、組織ホモジナイズ液の粘性が非常に強いせいか、mRNAの収量が低く感じる。

A. 組織ホモジナイズ液の粘性が非常に強いままになっている原因のひとつに、ゲノムDNAの存在が挙げられます。その際はlysis bufferにDNase I (例:最終濃度で0.01 mg/mL程度)を加えることを推奨します。粘性が強いままDynabeadsを加えると混ざりが悪くなるなど、mRNAの収量が低下する原因となります。

Q. Dynabeads mRNAシリーズでどの製品あるいはプロトコールを選べばいい？

A. Dynabeads mRNAシリーズは真核生物のmRNAのPolyA領域とハイブリするオリゴdT配列を共有結合したDynabeads Oligo(dT)<sub>25</sub>を基本としています。

選択する製品 / プロトコールはサンプル、目的により選択してください

Dynabeads mRNA Purification Kit (DB61006)はtotal RNAからmRNAを単離するのに適している。Dynabeads Oligo(dT)<sub>25</sub>とバッファー(Binding Buffer, Washing Buffer, and 10 mM Tris-HCl)の組み合わせです。

Dynabeads mRNA DIRECT kit (DB61011、DB61012)は動物及び植物の細胞及び組織の粗溶解物からmRNAを直接単離するのに適している。

Dynabeads Oligo(dT)<sub>25</sub>とバッファー(Lysis/Binding Buffer, Washing Buffers, 10 mM Tris-HCl, Reconditioning Solution, and Storage Buffer)の組み合わせです。

Dynabeads mRNA DIRECT Micro Kit(DB 61021)は少量のサンプルからmRNAを直接単離するのに適している。Dynabeads Oligo(dT)<sub>25</sub>とバッファー(Lysis/Binding Buffer, Washing Buffers, 10 mM Tris-HCl)の組み合わせです。

商品コード	商品名	梱包単位
DB61002	Dynabeads Oligo (dT)25	2 mLx1
DB61005	Dynabeads Oligo (dT)25	5 mLx1
DB61006	Dynabeads mRNA Purification kit	2 mL
DB61011	Dynabeads mRNA DIRECT kit	5 mL
DB61012	Dynabeads mRNA DIRECT kit (8/40 isol.)	10 mL
DB61021	Dynabeads mRNA DIRECT Micro kit (100isol.)	2 mL

日本総代理店  
株式会社

**ベリタス**

〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目18-16  
住友浜松町ビル6階  
TEL.03-5776-0078(代) FAX.03-5776-0076  
E-mail: veritas@veritastk.co.jp  
<https://www.veritastk.co.jp/>