

# Precast Agarose Gels을 이용한 고효율 RNA Analysis

By Hugh White

고순도의 RNA 준비는 RT-PCR, microarray target, ribonuclease protection assay, cDNA library, Northern blotting 등의 많은 응용 실험에서 좋은 결과를 얻는데 아주 중요하다. Denaturing agarose gel 전기영동에 의한 분석은 준비한 total RNA의 질을 평가하는데 가장 일반적으로 사용하는 방법이다. 그러나 이러한 방법은 전기영동시 발생할 수 있는 nuclease의 contamination에 기인한 degradation 등의 약점이 있고, gel의 준비, 전기영동 시간, 시료의 양 조절 등의 시간이 소요되며 formaldehyde를 다루어야 하는 위험성도 있다.

Reliant® and Latitude® Precast RNA Gels는 RNA 전기영동과 분석에 유용한 시스템으로 구성된 제품이다. 본 제품은 gel 준비 시간을 절약할 수 있을 뿐만 아니라 전기영동시 RNase의 contamination도 막을 수 있다. 또한 GelStar® Nucleic Acid Gel Stain과 함께 사용하면, 일반적인 denaturing agarose gel 분석 보다 고감도의 전기영동을 할 수 있다. Reliant, Latitude Precast RNA Gels는 gel size (6×10 cm mini 또는 10×15 cm midgels)와 well formats (8-40 시료)가 다양하여 각 시료에 맞는 gel을 선택할 수 있다.

## Results

그림 1은 20 well Reliant RNA Gel을 이용하여 전기영동을 한 것이다 (with GelStar Nucleic Acid Gel Stain). 전기영동은 30분 동안 수행하였으며 높은 resolution을 보이고 있다.

그림 2는 Reliant RNA Gel에 GelStar Nucleic Acid Gel Stain과 ethidium bromide stain 하여 비교한 것을 나타내었다. 동량의 RNA를 loading 하여 비교한 결과 ethidium bromide stain 보다 GelStar Nucleic Acid Gel Stain 이 4-8배 감도가 높았다.

## 결론

Reliant® and Latitude® Precast RNA Gels (with GelStar® Nucleic Acid Gel Stain)는 감도가 높고, 사용하기 편리한 제품으로 중요한 RNA 시료 준비 및 분석에 유용하게 사용할 수 있다.

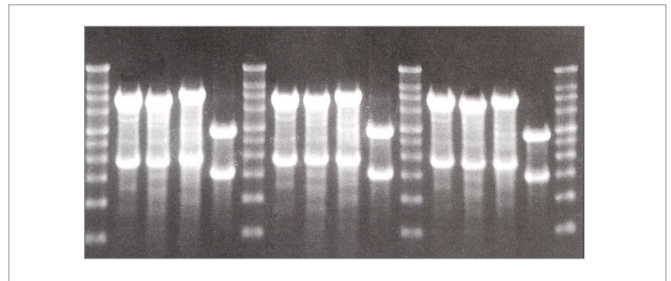


그림 1 1 µg의 RNA marker (Cambrex), *E. coli* total RNA, human liver total RNA, mouse liver total RNA 또는 rat liver total RNA를 65°C에서 15분간 heating 하여 formamide/formaldehyde-denatured 하였고, 1×MOPS running buffer를 이용하여 20-well Reliant® Precast RNA Gel에서 9 V/cm, 30분간 전기영동 하였다. 시료는 GelStar® Nucleic Acid Gel Stain (1:5,000 dilution)으로 60분간 post-staining하여 결과를 보았다.

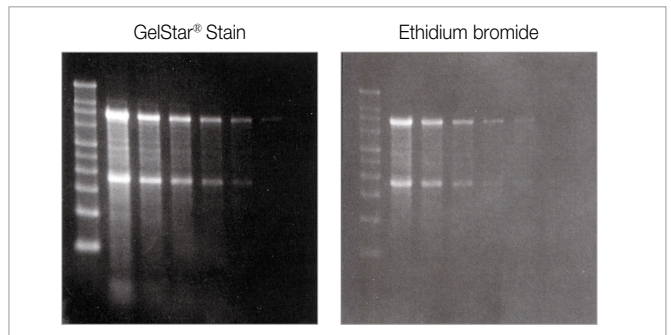


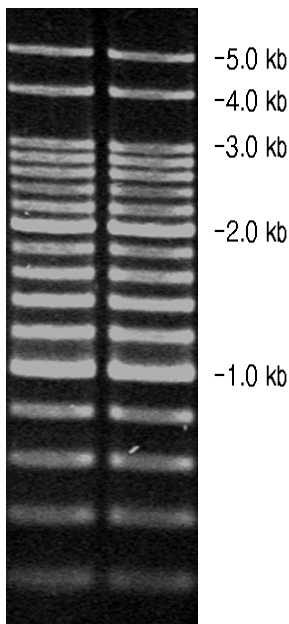
그림 2 시료는 1 µg의 RNA marker (Cambrex)와 human liver total RNA (1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 16 ng per lane)로 65°C에서 15분간 heating 하여 formamide/formaldehyde-denatured 하였고, 1×MOPS running buffer를 이용하여 8-well Reliant® Precast RNA Gel에서 7 V/cm, 60분간 전기영동 하였다. 그리고 GelStar® Nucleic Acid Gel Stain (1:5,000 dilution)으로 60분간 post-staining, 1 µg/ml의 ethidium bromide solution으로 60분간 staining 및 30분 destaining (water) 하여 결과를 비교하여 보았다.

# New 200 bp DNA Ladder 등장!!

정량 Marker 기능을 추가한 New 200 bp DNA ladder는 종래의 200bp DNA ladder의 불필요한 band를 제거하여 전기영동 시 각 band간 분리능을 크게 향상 시켰다.

New 200 bp DNA ladder는 200 bp부터 5000 bp까지 17개의 다양한 크기의 band로 구성되어 있어, PCR product의 Size 및 농도 확인은 물론, plasmid DNA의 제한효소 처리 후의 insert 확인 등 다양한 실험자의 욕구를 하나의 제품으로 충족 시키도록 설계하였다. 1 kb 및 2 kb의 band는 다른 band 보다 3배량의 DNA가 포함되어 있어 전기영동 후 편리하게 size를 확인할 수 있다.

정량 marker 기능을 첨가 시킨 New 200 bp DNA ladder는 사용권장량 5  $\mu\text{l}$  (210 ng/ $\mu\text{l}$ )로 각 band는 50 ng을 나타내며, 1 kb 및 2 kb는 150 ng을 나타낸다.



15 cm 1 % gel (ATTO), 120V, 135 min

## Concentration of fragments

fragment (kb)	Sample (ng/ $\mu\text{l}$ )
5.0	10
4.0	10
3.0	10
2.8	10
2.6	10
2.4	10
2.2	10
<b>2.0</b>	<b>30</b>
1.8	10
1.6	10
1.4	10
1.2	10
<b>1.0</b>	<b>30</b>
0.8	10
0.6	10
0.4	10
0.2	10

\* Red : indicator

## 제품설명

본 제품은, 2 kb부터 3 kb까지는 200 bp 간격으로 15개의 band와 4 kb 및 5 kb의 17개 band로 구성되어 있다.

1 kb 및 2 kb band는 나머지 band와 구별하기 위해 3배의 농도가 되도록 설계하였으며, 1회 5  $\mu\text{l}$  양을 loading하면 각 band의 양은 50 ng(1 kb 및 2 kb band는 150 ng)이 된다.

## 농도

210 ng/ $\mu\text{l}$

## 보존

-20 $^{\circ}\text{C}$

## 포장

100 회용 (50  $\mu\text{l}$ )