

2020年8月31日

お知らせ

下記の通り、規格の改定がありましたので変更いたします。

ページ	変更箇所	変更前	変更後
14 ページ	9. 分子生物学用 Good's Buffer 品名：PIPES 規格	純度 99.7% 以上	純度 99.5% 以上

以上



販売中止のお知らせ

お客様各位

いつも小社製品をご愛顧頂きありがとうございます。
2020年2月1日より下記製品は販売中止となりますため、
本冊子に記載の製品に関してご注意頂きますようよろしくお願い申し上げます。

販売中止品目

製品コード	製品名	容量
A005	Agarose-III	25 g
A005	Agarose-III	100 g
E262	-Cellstain- EB	1 mg
E272	-Cellstain- EB solution	1 ml
GB73	ACES 分子生物学用	20 g
GB74	ADA 分子生物学用	20 g
GB75	BES 分子生物学用	20 g
GB76	Bicine 分子生物学用	20 g
GB77	Bis-Tris 分子生物学用	20 g
GB78	CAPS 分子生物学用	20 g
GB79	CHES 分子生物学用	20 g
GB82	TAPS 分子生物学用	20 g
GB83	TES 分子生物学用	20 g
GB84	Tricine 分子生物学用	20 g
GK03	Get pureDNA Kit-Cell, Tissue	200 samples
MB02	10x MESA	1 l
MB06	20x SSC	500 ml
MB07	20x SSPE	500 ml

ご不明点等がございましたら、小社カスタマーサポートまでお問い合わせ下さい。
フリーダイヤル 0120-489548



分子生物学関連試薬

Molecular Biology

DOJINDO

<http://www.dojindo.co.jp>

分子生物学関連試薬

1. 遺伝子導入試薬	1	7. 分子生物学用 Agarose	13
HilyMax		Agarose 900	
		Agarose 1500	
2. タンパク質定量キット	3	8. 分子生物学用 Buffer	13
-Proteostain- Protein Quantification Kit - Rapid		10x MESA	
-Proteostain- Protein Quantification Kit - Wide Range		10x TBE	
		10x TE	
3. 損傷遺伝子検出用試薬	5	20x SSC	
-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit - AP site Counting -		20x SSPE	
ARP(Aldehyde Reactive Probe)		1M Tris-HCl	
		0.5M EDTA	
4. 核酸精製・抽出キット	7	分子生物学用 Good's Buffer	14
Get pureDNA Kit - Agarose		ACES	
Get pureDNA Kit - Cell, Tissue		ADA	
Get pureRNA Kit		BES	
		Bicine	
5. 核酸機能解析用試薬	10	Bis-Tris	
BABE		CAPS	
FeBABE		CHES	
		EPPS	
6. 核染色用試薬	11	HEPES	
-Cellstain [®] AO		MES	
-Cellstain [®] EB		MOPS	
-Cellstain [®] PI		PIPES	
-Cellstain [®] DAPI		TAPS	
-Cellstain [®] Hoechst 33258		TES	
-Cellstain [®] Hoechst 33342		Tricine	

1. 遺伝子導入試薬

— 効率よく安価に遺伝子導入 —

HilyMax

1 ml ; 同仁品コード (H357)

細胞内へ遺伝子導入する方法の1つにリポフェクション法がある。本法による遺伝子導入は、簡便な操作で高い導入率を実現でき、更には低コストであるため、多岐にわたる動物細胞への遺伝子導入法として汎用されている。HilyMax(ハイリーマックス)は、陽イオン性合成脂質を使用したリポフェクション法による遺伝子導入試薬である(特許出願:PCT/JP2006/304514)。増殖培地中の血清の影響を殆ど受けないため、遺伝子導入時の面倒な培地交換をする必要がなく、多岐にわたる細胞種へ高効率に遺伝子導入することができる(表1-1にHilyMaxによるDNA導入実績を示す)。

GFP発現pDNAの導入例

HilyMaxを用いて、CHO細胞へDNA(hsGFP)を導入し、発現したhsGFPを蛍光顕微鏡にて観察する方法を紹介する。(24ウェルプレート使用)

1. 細胞の準備

遺伝子導入時に細胞密度が80%になるよう調整したCHO細胞懸濁液(8 × 10⁴ cells/well)をプレートへ播種し、CO₂インキュベーターにて一晩培養する。

2. DNA-HilyMax複合体の調製

3. 細胞への添加

インキュベーション後のDNA-HilyMax複合体を1.で準備したCHO細胞へ添加し、プレートを穏やかに振とうする。

4. 細胞の培養

CO₂インキュベーターにて細胞を24時間培養する。

5. 遺伝子導入評価

GFP発現活性を蛍光顕微鏡下で観察する。

(1) 試薬調製

Lipoform Buffer 1.0 mlをHilyMax Reagentのチューブに添加し、ボルテックスにより30秒間攪拌し、HilyMax溶液(リポソーム)を調製する。攪拌後は、チューブ底部のフィルム状の固体が消失したことを確認する。不溶物が残存している場合は、再度完全に溶解するまでボルテックスにより攪拌を行う。

(2) キット以外に必要なもの

無血清培地、DNA、増殖培地、細胞、炭酸ガスインキュベーター、クリーンベンチ、オートクレーブ、マイクロプレート、マイクロピペッター、マイクロチューブ

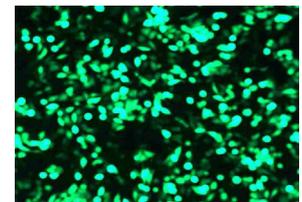
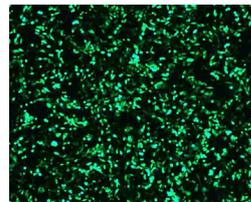


図1-1 hsGFPを発現させたCHO細胞の蛍光顕微鏡像(B励起)

表1-1 HilyMaxによるプラスミドDNA導入実績 *最新情報はホームページをご覧ください。

動物細胞

細胞名	由来	細胞名	由来	細胞名	由来
COS-1	アフリカミドリザル 腎臓	HeLa	ヒト 子宮頸癌	PA-1	ヒト テラトカルシノーマ
COS-7	アフリカミドリザル 腎臓	HeLa S3	ヒト 子宮頸癌	PC3	ヒト 前立腺癌
Vero	アフリカミドリザル 腎臓	HepG2	ヒト 肝臓・胆嚢	SH-SY5Y	ヒト 神経芽細胞腫
MDCK	イヌ 腎臓	HFL-1	ヒト 胎児 肺	T98G	ヒト 脳グリオプラストーマ
CHO	チャイニーズハムスター 卵巣	HT29	ヒト 結腸癌	UtSMC	ヒト 子宮平滑筋
CEF	ニワトリ 胚	Human hepatic Stellate	ヒト 肝臓	3T3-L1	マウス 胚
COV	ニワトリ 卵巣	JHH-4	ヒト 肝臓、胆嚢癌	C2C12	マウス 骨芽
DT40	ニワトリ 血球・リンパ系	Jurkat	ヒト 白血病性T細胞	L929	マウス 繊維芽
293T	ヒト 胎児腎臓	K562	ヒト 血球・リンパ系	MC3T3-E1	マウス 骨芽細胞様
A172	ヒト グリア芽腫	KINGS1	ヒト グリア細胞	Neuro2a	マウス 神経系
A549	ヒト 肺上皮癌	LNCap	ヒト 前立腺癌	NIH3T3	マウス 胎仔
AGS	ヒト 胃上皮	MCAS	ヒト 卵巣癌	L6	ラット 筋組織
Caco2	ヒト 腸管上皮	MCF-7	ヒト 哺乳器	RBL2H3	ラット 血球・リンパ系
DU145	ヒト 前立腺癌細胞	Mesenchymal cell	ヒト 間葉系幹	VSMC	ラット 血管平滑筋
H1395	ヒト 肺癌	MG63	ヒト 骨肉腫	昆虫細胞	
HaCaT	ヒト 皮膚角化細胞	MKN	ヒト 胃	細胞名	由来
HC	ヒト 胎児 肝臓	NB1	ヒト 神経芽細胞腫	BMN	カイコ 卵巣
HEK293	ヒト 胎児 腎臓	NCI-H295R	ヒト 副腎腫瘍	Sf9	ヤトウガ

●シグナル伝達系研究における遺伝子導入試薬の影響について

外部からの刺激が遺伝子を発現させる際のシグナル伝達メカニズムの研究において、IL-8によって遺伝子発現するように設計されたルシフェラーゼ発現プラスミドを遺伝子導入試薬を用いてA549細胞に入れた場合、遺伝子導入試薬によってどのような違いがでてくるかを示すデータがある(表1-2参照)。

表1-2 シグナル応答の比較

		刺激なし	TNF- α 添加	TNF- α 、 Dexamethasone 添加
HilyMax	Luciferase 活性 (RLU)	835	10313	1753
	シグナル応答		12.4倍↑	83%↓
他社品	Luciferase 活性 (RLU)	12053	20890	12334
	シグナル応答		1.7倍↑	41%↓

(データ提供: 熊本大学大学院 生命科学研究部
薬物活性学分野 磯濱洋一郎先生)

HilyMax と他社品を比較した場合、IL-8 プロモーター領域を持つルシフェラーゼ発現プラスミドを他社の遺伝子導入試薬で導入した細胞では、TNF- α による細胞刺激をしない場合でもルシフェラーゼ活性を示しており、刺激前後での発光強度比は1.7倍程度でしかないのに対し、HilyMax でプラスミドを導入した細胞では、刺激前のルシフェラーゼ活性は低く、TNF- α 添加によって刺激されることによりルシフェラーゼが発現し、発光量比は約12倍以上となった。このことから、他社の遺伝子導入試薬を用いてプ

ラスミドを導入した場合、何らかの理由でIL-8が産生されプロモーターが刺激を受け、ルシフェラーゼタンパクが発現したものと考えられる。

一方、HilyMax でプラスミドを導入した場合は、IL-8の発現は殆ど見られず、TNF- α 添加によってIL-8が発現され、それがIL-8プロモーターを介してルシフェラーゼタンパク発現を促した結果として、発光量が大きく変化したものと考えられる。更に、TNF- α 刺激によるIL-8発現量とルシフェラーゼタンパク発現量を比較すると、互いに相関した結果が得られた¹⁾。

以上のことから、他社の遺伝子導入試薬の構成成分には、細胞のシグナル伝達に影響を与えるものが含まれている可能性がある。さらに、GFPを安定的に発現するHT1080細胞へ、他社の導入試薬のみを添加すると、試薬濃度依存的にGFP発現量が増加することが報告されており、上記の結果を支持している²⁾。

したがって、他社の導入試薬に比べ、HilyMaxはシグナル伝達に影響を与えにくいと考えられ、シグナル伝達に関わる研究に用いる際の遺伝子導入試薬として有用である。

- 1) H. Takei, Y. Baba, A. Hisatsune, H. Katsuki, T. Miyata, K. Yokomizo, and Y. Isohama, Glycyrrhizin Inhibits Interleukin-8 Production and Nuclear Factor- κ B Activity in Lung Epithelial Cells, but Not Through Glucocorticoid Receptors, *J Pharmacol Sci.*, **2008**, *106*, 460-468.
- 2) T. Tagami, K. Hirose, J. M. Barichello, T. Ishida, and H. Kiwada, Global Gene Expression Profiling in Cultured Cells Is Strongly Influenced by Treatment with siRNA-Cationic Liposome Complexes, *Pharmaceutical Research*, **2008**, *25*, 11.

HilyMax CHO細胞用
Transfection Reagent **最適遺伝子導入条件**

はじめに
本プロトコルは、HilyMaxを用いてCHO細胞へ遺伝子導入を行うための最適条件を示しております。『最適遺伝子導入条件および遺伝子導入操作』に従って遺伝子導入を行ってください。なお、本プロトコルは、24ウェルプレートを用いた条件を示しています。他のプレートをご使用の際は、表2『培養プレート毎での培養および遺伝子導入条件』を参照のうえ、遺伝子導入操作中の下線部分の条件を変更し、遺伝子導入を行ってください。

※重要※
細胞の培養条件、継代日数等により、遺伝子導入時の最適条件が変わる可能性があります。本条件において低い導入効率が見られる場合は、下記のHilyMaxによる遺伝子導入例及び導入がうまくいかない場合の対策および確認を参考に検討ください。

最適遺伝子導入条件：24ウェルプレート使用時
表1 CHO細胞における最適遺伝子導入条件

細胞密度	無血清培地	DNA量	HilyMax量	複合体調製時間
80%	30 μ l	1 μ g	3.0-5.0 μ l	15 min

遺伝子導入後の培地交換 不要

遺伝子導入操作：24ウェルプレート使用時

《細胞の準備》
CHO細胞用の増殖培地にて懸濁
遺伝子導入時に細胞密度80%になるよう希釈した細胞懸濁液(0.5 ml)を24ウェルプレートへ添加
CO₂インキュベーターにて24 hr培養

《遺伝子導入操作》
DNA-HilyMax複合体の調製
-無血清培地(血清成分を含まない) 30 μ l(well)を別途容器(エプンドルフチューブなど)へ添加
-DNA 1.0 μ g/wellを添加、混合
-HilyMax 3.0-5.0 μ l/wellを添加、混合
-15分間、室温にてインキュベーション
CHO細胞へDNA-HilyMax複合体を添加
CO₂インキュベーターにて18-48 hr培養

《導入評価》
レポート遺伝子または目的遺伝子の発現活性を測定する。

スケールアップ&ダウン
表2 培養プレート毎での培養および遺伝子導入条件

培養容器	培養面積	増殖培地量	培地量(無血清)	DNA量	HilyMax量
96-well	0.3 cm ²	0.1 ml	10 μ l	0.2 μ g	0.6-1.0 μ l
24-well	1.9 cm ²	0.5 ml	30 μ l	1.0 μ g	3.0-5.0 μ l
12-well	3.8 cm ²	1.0 ml	60 μ l	2.0 μ g	6.0-10.0 μ l
6-well	9.2 cm ²	2.0 ml	120 μ l	4.0 μ g	12.0-20.0 μ l
35-mm	8.0 cm ²	2.0 ml	120 μ l	4.0 μ g	12.0-20.0 μ l
60-mm	21.0 cm ²	5.0 ml	300 μ l	10.0 μ g	30.0-50.0 μ l
100-mm	58.0 cm ²	15.0 ml	900 μ l	30.0 μ g	90.0-150.0 μ l

HilyMaxによる遺伝子導入例

図1 CHO細胞における遺伝子導入効率

遺伝子導入前日に、24ウェルプレートに播種したCHO細胞(細胞密度50%、pGL3 control vector (Promega) をHilyMaxを用いて各条件にて遺伝子導入した。遺伝子導入24時間後のLuciferase活性を、HilyMaxによる導入として確認した。CHO細胞は、10% FBS (Gibco) 及びN-Non-Essential Amino Acids (Gibco) を含むDMEM培地(Gibco)にて、濃縮細胞凍結液約2週間前代培養したものをを用いた。細胞密度50%: 0.5 × 10⁵ cells/well 細胞密度80%: 0.8 × 10⁵ cells/well

導入がうまくいかない場合の対策および確認

~導入効率が顕著に低い場合~
対策1: DNA(μ g)/HilyMax(μ l)=1.5:1.0の条件にて検討下さい。
対策2: 本プロトコル記載したDNA量の1.5-2.0の用量を使用し、DNA(μ g)/HilyMax(μ l)=1.3-1.5で検討下さい。

~毒性が強い場合~
対策1: 本プロトコル記載したDNA量の半分量を使用し、DNA(μ g)/HilyMax(μ l)=1.3-1.7で検討下さい。

~遺伝子導入時の確認~
確認1: HilyMax Reagentがチューブ下部に半透明の溜り残りはありますか?
確認2: 遺伝子導入から導入評価までの細胞培養時間は、適切ですか?
確認3: 複合体調製時の培地、血清及び抗生物質が入っていませんか?

株式会社同仁化学研究所 Issued March 7th 2009

ホームページに細胞種毎プロトコルを掲載いたしております。
是非そちらもご覧ください。
http://www.dojindo.co.jp/whatsnewsj/newpro/hilymax/hilymax.html

2. タンパク質定量キット

試料中のタンパク質の定量法としてこれまで様々な方法が開発され、また実用化されている。例えばタンパク質濃度を直接吸光度から求める吸光光度法、Biuret 試薬を用いた Biuret 法、フェノール試薬と Biuret 法を組み合わせた Lowry 法、1 級アミンと反応する蛍光試薬を用いた蛍光法、色素のメタクロマジーを利用した Bradford 法などが知られている。Bradford 法は、酸性溶液中、トリフェニルメタン系青色色素の Coomassie Brilliant Blue G-250 がタンパク質と結合することで、最大吸収波長が 465 nm から 595 nm にシフトすること（メタクロマジー）を利用してタンパク質を定量する方法である。吸収波長のシフトは色素とタンパク質との疎水性相互作用およびイオン相互作用に基づいている。

—短時間でタンパク質を定量—

-Proteostain- Protein Quantification Kit- Rapid

500 tests ; 同仁品コード (PQ01)
2500 tests ; 同仁品コード (PQ01)

本キットは Bradford 法を応用した方法であり、高感度かつ迅速にタンパク質を定量することが可能である。

Coomassie Brilliant Blue G-250 はタンパク質に作用し、酸性条件下で青色に呈色する ($\lambda_{max}=595\text{ nm}$)。しかも呈色反応は 1 分以内に終了し、生じた色素は 30 分以上安定である。従ってこの方法を使うことにより数分でタンパク質の定量を行うことができる。

定量できるタンパク質の濃度範囲は Standard 法で 10 $\mu\text{g/ml}$ ~ 2,000 $\mu\text{g/ml}$ 、Micro 法で 1 ~ 50 $\mu\text{g/ml}$ である。

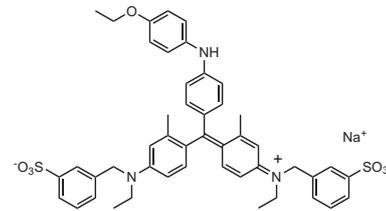


図 2-3 Coomassie Brilliant Blue G-250

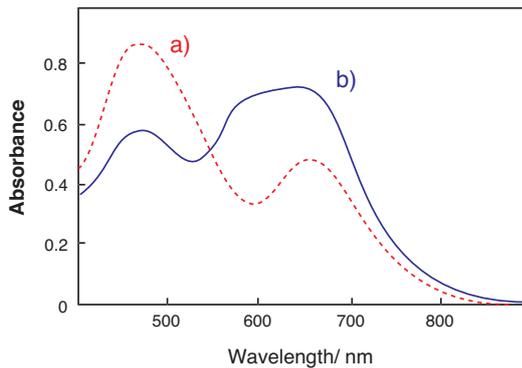


図 2-1 Coomassie Brilliant Blue G-250 の吸収スペクトル
a) タンパク質なし
b) BSA (500 $\mu\text{g/ml}$) 存在下

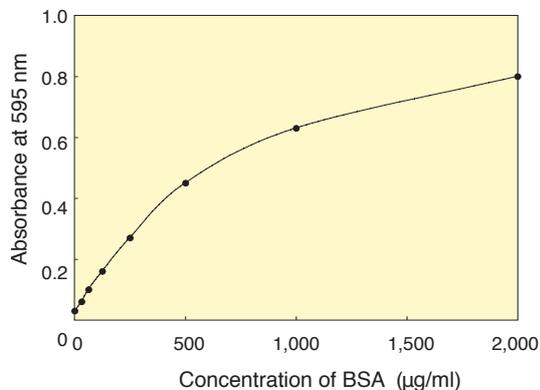


図 2-2 Standard BSA solution で作成した検量線 (Standard 法)

タンパク種による変動

このキットは検量線用のタンパク質として BSA を用いているが、すべてのタンパク種に対し、この検量線を使うことはできない。タンパク種による感度の変動を下に示す。

Protein	Protein/BSA ^{a)}
BSA	1
Chymotrypsinogen A	0.67
Transferrin	1.02
Human IgG	0.96

a) 各検量線の傾きの比を示す

阻害物質の影響

このキットの測定原理はタンパク質の疎水性部位との相互作用を利用しているため、界面活性剤は正の誤差を生じ、その他の物質も高濃度であれば誤差を生じる。表 2-1 に標準法における測定に影響を及ぼさない阻害物質の最大濃度を示す。

表 2-1 測定に影響を及ぼさない阻害物質の最大濃度 *

Chemical	Concentration	Chemical	Concentration
Detergent		Salt	
Brij 35	0.125%	Sodium chloride	2 mol/l
Brij 56	0.025%	Potassium chloride	2 mol/l
Brij 58	0.005%	Sodium acetate	0.4 mol/l
Triton X-100	0.125%	Sodium bicarbonate	0.1 mol/l
Triton X-114	0.125%	Buffer	
Tween 20	0.25%	Citrate pH 5.0	0.125 mol/l
Tween 80	0.1%	MES pH 6.1	0.125 mol/l
SDS	0.1%	Tris pH 7.4	0.0625 mol/l
CHAPS	4%	PBS	Undiluted
CHAPSO	4%	HEPES pH 7.5	0.125 mol/l
MEGA-10	4%	CHES pH 9.0	0.125 mol/l
<i>n</i> -Octyl- β -D-glucoside	0.5%	Reducing agent	
Organic solvent		Glucose	2 mol/l
Ethanol	10%	Glutathione	0.04 mol/l
Isopropanol	10%	Ascorbic acid	0.4 mol/l
DMSO	10%	Dithiothreitol	0.01 mol/l
Chelating agent			
EDTA	0.4 mol/l		
DTPA	0.4 mol/l		

* 無添加の BSA による検量線との誤差が 5% 以内の濃度を示す。

(開発元: Dojindo Molecular Technologies Inc.)

—タンパク質により還元発色—

-Proteostain- Protein Quantification Kit- Wide Range

本キットは塩基性条件での tetrazolium salt の還元反応を利用したものである。tetrazolium salt は、タンパク質により容易に還元され formazan dye を生成する。WST-8 formazan は中性域では黄色であるが、高 pH 域では青色を呈し、pH12.5 以上では 650 nm に極大吸収を持つ。本キットの測定レンジは 100 ~ 5,000 µg/ml (BSA) である。

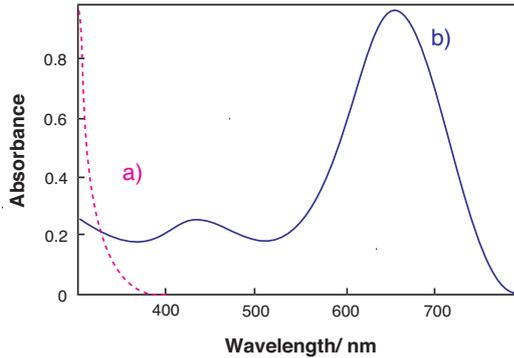


図 2-4 WST-8 の吸収スペクトル
a) タンパク質なし b) タンパク質あり (BSA 2,000 µg/ml)

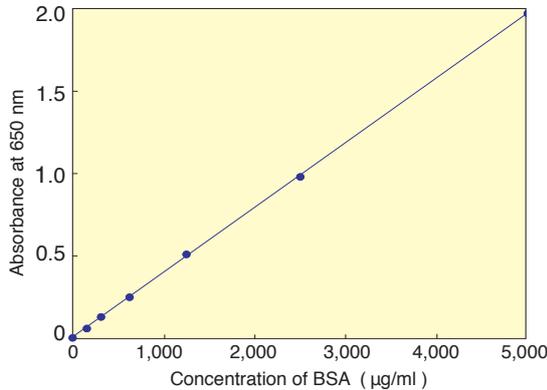


図 2-5 Standard BSA solution で作成した検量線 (マイクロプレート法)

500 tests ; 同仁品コード (PQ02)
2500 tests ; 同仁品コード (PQ02)

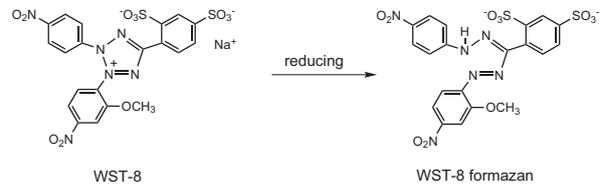


図 2-6 WST-8 とその formazan の構造式

タンパク種による変動

このキットは検量線用のタンパク質として BSA を用いているが、すべてのタンパク種に対し、この検量線を使うことはできない。タンパク種による感度の変動を下に示す。

Protein	Protein/BSA ^{a)}
BSA	1
Chymotrypsinogen A	0.75
Transferrin	0.97
Human IgG	0.37

a) 各検量線の傾きの比を示す

表 2-2 測定に影響を及ぼさない阻害物質の最大濃度*

Chemical	Concentration	Chemical	Concentration
Detergent		Salt	
Brij 35	2%	Sodium chloride	0.5 mol/l
Brij 56	1%	Potassium chloride	1 mol/l
Brij 58	1%	Sodium acetate	0.2 mol/l
Triton X-100	1%	Sodium bicarbonate	6.25 mol/l
Triton X-114	1%	Buffer	
Tween 20	0.5%	Citrate pH 5.0	0.6 mol/l
Tween 80	0.3%	MES pH 6.1	12.5 mol/l
SDS	1%	Tris pH 7.4	2.5 mol/l
CHAPS	4%	PBS	Undiluted
CHAPSO	2%	HEPES pH 7.5	12.5 mol/l
MEGA-10	0.5%	CHES pH 9.0	12.5 mol/l
<i>n</i> -Octyl-β-D-glucoside	0.5%	Chelating agent	
Organic solvent		EDTA	2.5 mol/l
Ethanol	10%	DTPA	0.625 mol/l
Isopropanol	10%		
DMSO	10%		

* 無添加の BSA による検量線との誤差が 5% 以内の濃度を示す。

(開発元 : Dojindo Molecular Technologies Inc.)

3. 損傷遺伝子検出用試薬

— DNA の損傷を簡単に定量 —

-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit - AP Site Counting-

5 samples ; 同仁品コード (DK02)
20 samples ; 同仁品コード (DK02)

生物の遺伝情報を保持している DNA は、複製時の DNA polymerase のエラーに加えて、環境中の放射線や紫外線、またはアルキル化剤等の化学物質、生体内における活性酸素等の代謝産物により損傷を受ける。これらのエラーや損傷が正しく修復されなければ突然変異を誘発し、これが癌や老化の原因となる。

DNA 損傷部位には修復機構が働き、その一つとして塩基除去修復がある。この時 AP site (apurinic / apyrimidinic site) と呼ばれる塩基除去部位が出現する。つまり AP site の検出は DNA 損傷部位を測定し得る有効な方法となる。

-Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit -AP Site Counting- は、AP site と特異的に結合する ARP [*N*-(Aminoxy acetyl)-*N'*-biotinyl-hydrazine] を用いて DNA をビオチン化し、96 穴マイクロプレートに固相化して試料 DNA 中の AP site を簡便に定量できるキットである。

本キットには、AP site 数が既定された標準 DNA が含まれており、既存のビオチン検出法を用いることによって AP site の定量ができる。

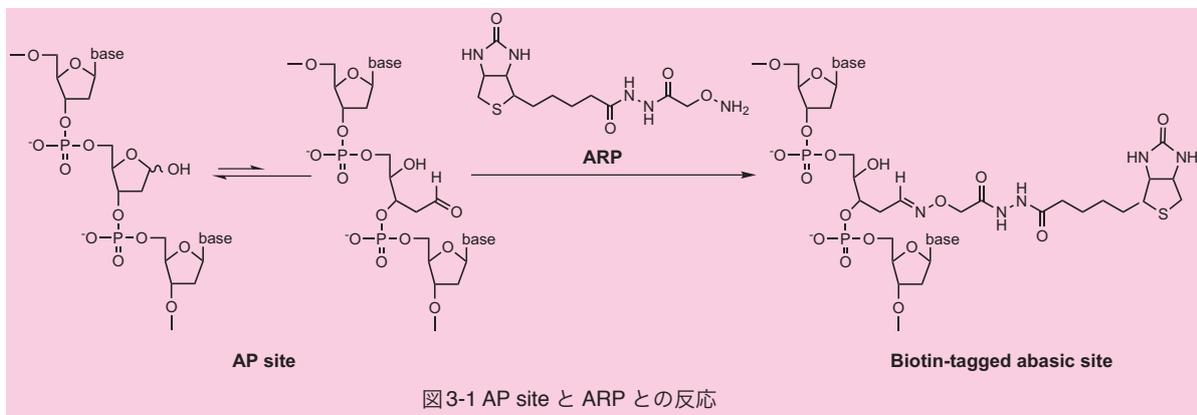
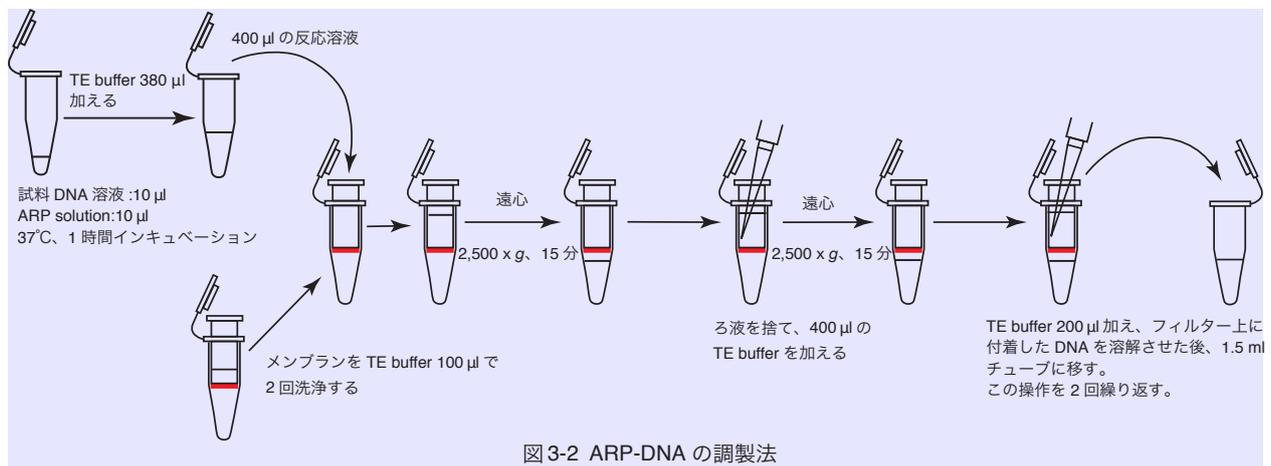


図3-1 AP site と ARP との反応

キット内容

	[5 samples 用]	[20 samples 用]	*キット以外に必要な器具
ARP-DNA standard solution (0, 2.5, 5.0, 10, 20, 40 AP sites / 100,000 bp)	各 250 μ l	各 250 μ l	・ 10 μ l、200 μ l マイクロピペッター
ARP solution	100 μ l \times 1	250 μ l \times 1	・ 8 連マイクロピペッター (50 ~ 200 μ l)
DNA binding solution	10 ml \times 1	10 ml \times 1	・ 低温恒温槽 (37°C)
Washing buffer	1 pack	1 pack	・ マイクロプレートリーダー
HRP-streptavidin	25 μ l \times 1	25 μ l \times 1	・ 0.5 ml、1.5 ml 遠心チューブ
TE buffer	15 ml \times 1	40 ml \times 1	・ 遠心機
Substrate solution	10 ml \times 1	10 ml \times 1	・ DNA 抽出キット
Filtration tube	5 tubes	20 tubes	・ TE Buffer
96-well Microplate/U bottom	1 plate	1 plate	



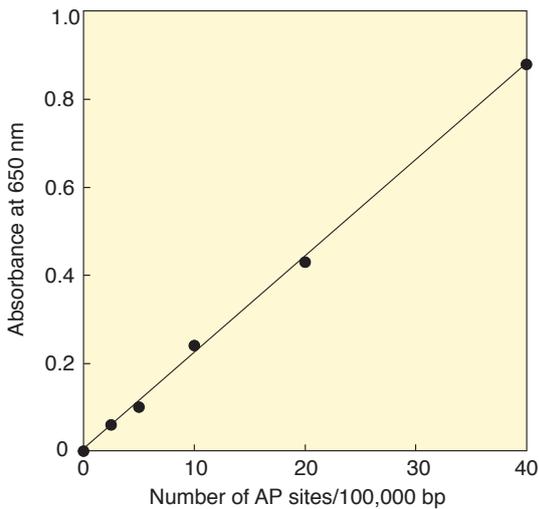


図 3-3 ARP-DNA standard solution を用いて作成した検量線

注意事項

- 1) キットは 0 ~ 5°C で保存し、凍結させないこと。
- 2) AP-DNA は一般に不安定ですので、測定対象 DNA を単離精製後は直ちに ARP 反応を行う。
- 3) Filtration tube での遠心分離後は、直ちに TE buffer を添加し DNA を溶解させる。長時間 DNA をメンブラン上で放置しておく、DNA のメンブランへの吸着が起こり回収率にバラツキを生じる可能性がある。
- 4) γ 線滅菌のチューブは DNA の吸着を生じる可能性があるため、チューブを使用の際は非滅菌チューブを必要に応じてオートクレーブ滅菌して使用することを推奨する。
- 5) 630 ~ 670 nm のフィルターを持ち合わせていない場合は、発色反応後、各 well より 50 μ l 抜き取り新しいプレートに移す。同量の 1 mol/l 硫酸を添加後、450 nm の吸光度で測定することができる。硫酸添加後、速やかに測定する。
- 6) well 洗浄後、残存する洗浄液により測定誤差を生じることがあるので完全に除くこと。

参考文献

- 1) A. Sancar and G. B. Sancar, *Annu. Rev. Biochem.*, **1988**, 57, 29 .
- 2) T. Lindahl and B. Nyberg, *Biochemistry*, **1972**, 11, 3610.
- 3) M. Liuzzi and M. Talpaert-Borle, *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 5252.
- 4) M. Weinfeld, M. Liuzzi, and M. C. Paterson, *Biochemistry*, **1990**, 29, 1737.
- 5) B. X. Chen, K. Kubo, H. Ide, B. F. Erlanger, S. S. Wallace, and Y. W. Kow, *Mutat. Res.*, **1992**, 273, 253.

(開発元 : Dojindo Molecular Technologies Inc.)

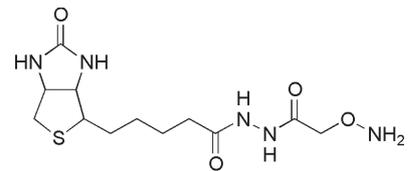
— AP site と反応できるビオチン —

ARP(Aldehyde Reactive Probe)

ARP (Aldehyde Reactive Probe) は久保らにより、比較的簡単に AP site を定量できる試薬として開発された。ARP は AP site のアルデヒド基と特異的に結合する化学プローブで、AP site に生じたアルデヒド基と反応するアミノキシル部位とアビジンと特異的に結合するビオチン部位からできている。

ビオチン/アビジン-酵素/発色基質の系で定量した場合 10,000 ヌクレオチド当たり 1 個程度の割合で含まれる AP site を定量することができる。

10 mg 340-07611 ; 同仁品コード (A305)



ARP

N-(Aminoxyacetyl)-N'-biotinyl-hydrazine
C₁₂H₂₁N₅O₄S = 331.39
CAS No. (139585-03-8)

4. 核酸精製・抽出キット

アガロース電気泳動後の目的 DNA の回収には、透析膜を用いた電気泳動濃縮法、アガラーゼのようなゲル分解酵素を用いた方法、シリカ担体を用いた方法等が汎用されている。中でもシリカ担体を用いた方法はキットとして市販されているが、1) 処理するゲルの使用量に制限がある、2) 高分子量の DNA では回収率が低い、という問題を抱えていた。Get pureDNA Kit-Agarose はゲル溶解剤、ゲル除去剤および DNA 共沈剤で構成され、目的 DNA を簡便に高回収率で得ることができる。DNA はペレットで回収されるので、バッファーで目的濃度の DNA 水溶液に調製でき、PCR、ライゲーション等にそのまま使用することができる。

一方、ゲノム解析法の一つであるサザンブロット法、ゲノムライブラリーの作製および PCR には、高純度のゲノム DNA を簡便かつ短時間に抽出することが求められる。Get pureDNA Kit-Cell, Tissue は、①細胞・動物組織細胞を溶解する、②溶解液から RNA およびタンパク質を除く、③エタノール沈殿により DNA を回収する、という 3 ステップで、培養細胞および動物組織から高純度のゲノム DNA を簡便に抽出できる。また、多量のサンプルからゲノムを抽出する際は、各試薬を比例倍量使用することにより対応可能である。抽出した DNA は制限酵素反応、PCR 反応等にそのまま使用できる。

Get pureRNA Kit は、溶解液、タンパク除去液および DNase 溶液により構成されており、細胞・動物組織・血液から高純度の Total RNA を短時間で抽出することができる。CsCl 超遠心法のような超遠心を必要とせず、またフェノール、クロロホルム等の有害な有機溶媒を使用しない。シリカベースのスピナラム法の様にサンプル量の制限がなく、大量サンプルからの抽出も可能である。得られた RNA は RT-PCR、ノーザンブロット解析、cDNA 合成等に使用することができる。

—アガロースから高効率で DNA を回収—

Get pureDNA Kit - Agarose

200 samples ; 同仁品コード (GK01)

アガロースゲルからの DNA 抽出

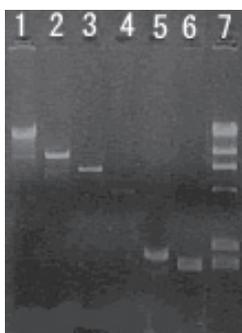
Get pureDNA Kit-Agarose

1. キット内容

Gel lysis buffer	65 ml × 1
Precipitation solution	65 ml × 1
Co-precipitation solution (20 mg/ml glycogen)	0.5 ml × 1

2. キット以外に必要な試薬・機器類

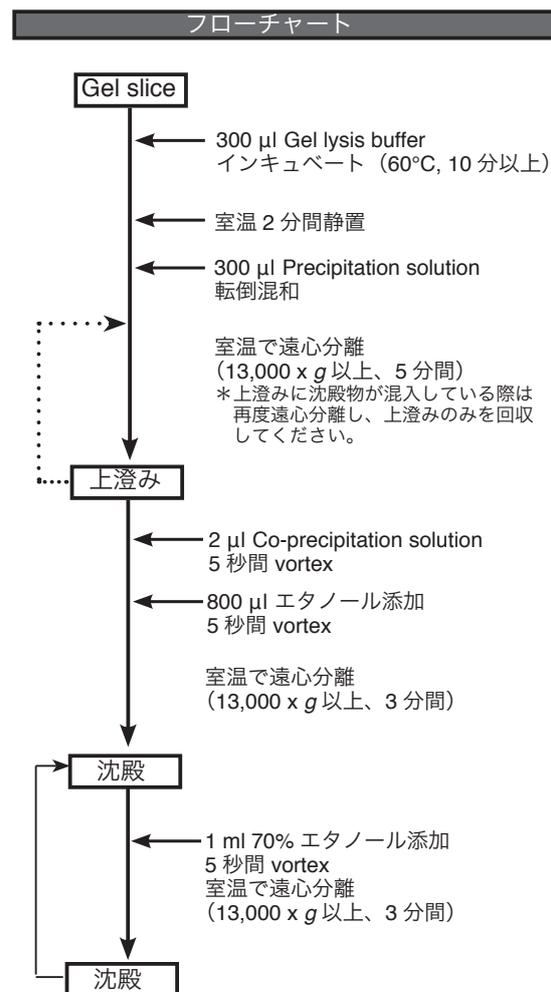
- ・エタノール (100%、70%)
- ・1.5 ml 遠心チューブ
- ・マイクロピペット及びチップ
- ・遠心分離機
- ・ポルテックスミキサー
- ・60°C 恒温槽



Lane 1: 23 kbp
Lane 2: 9.42 kbp
Lane 3: 6.56 kbp
Lane 4: 4.36 kbp
Lane 5: 2.32 kbp
Lane 6: 2.02 kbp
Lane 7: Original

0.8% Agarose
100 V, 60 min

図 4-1 λ DNA/Hind III のフラグメントの回収例



(開発元 : Dojindo Molecular Technologies Inc.)

—細胞・組織から高純度 DNA を簡便抽出—

Get pureDNA Kit - Cell, Tissue

200 samples ; 同仁品コード (GK03)

細胞または動物組織からの DNA 抽出

Get pureDNA Kit-Cell, Tissue

1. キット内容

Lysis buffer	110 ml × 1
Proteinase K solution	1.05 ml × 2
RNase solution	0.5 ml × 1
Precipitation solution I	22 ml × 1
Precipitation solution II	22 ml × 1

2. キット以外に必要な試薬・機器類

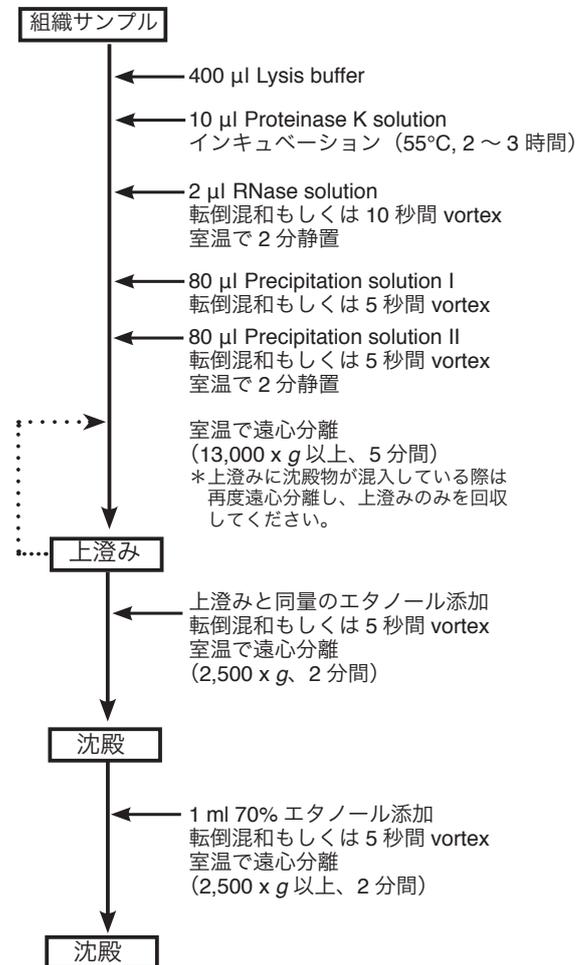
- ・エタノール (100%、70%)
- ・PBS(細胞サンプルを処理する場合)
- ・1.5 ml 遠心チューブ
- ・マイクロピペット及びチップ
- ・遠心分離機
- ・ボルテックスミキサー
- ・65°C恒温槽
- ・ホモジナイザー (動物組織を処理する場合)

表 4-1 細胞、組織からの DNA 回収量とその純度の例

サンプル	回収量 (µg)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
HeLa cell (1 x 10 ⁷ cells)	80 ~ 120	1.7 ~ 1.9
HeLa cell (1 x 10 ⁸ cells)	1,000 ~ 1,500	1.7 ~ 1.9
HL60 cell (1 x 10 ⁷ cells)	40 ~ 60	1.7 ~ 1.9
HL60 cell (1 x 10 ⁸ cells)	500 ~ 900	1.7 ~ 1.9
mouse liver (25 ~ 30 mg)	40 ~ 100	1.7 ~ 1.9
mouse brain (25 ~ 30 mg)	20 ~ 40	1.7 ~ 1.9
mouse kidney (25 ~ 30 mg)	50 ~ 60	1.7 ~ 1.9
mouse heart (25 ~ 30 mg)	20 ~ 25	1.7 ~ 1.9
mouse tail (25 ~ 30 mg)	40 ~ 60	1.7 ~ 1.9
rat liver (1 g)	2,000 ~ 2,500	1.7 ~ 1.9
rat brain (1 g)	600 ~ 800	1.7 ~ 1.9
rat kidney (1 g)	1,800 ~ 2,300	1.7 ~ 1.9
rat heart (0.8 - 0.9 g)	600 ~ 800	1.7 ~ 1.9
rat tail (10 cm)	2,500 ~ 3,500	1.7 ~ 1.9

フローチャート

例：動物組織 25 ~ 30 mg を処理する場合



(開発元：Dojindo Molecular Technologies Inc.)

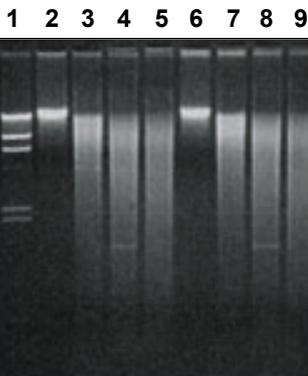


図 4-2 マウス組織から抽出した DNA とその制限酵素消化反応後の電気泳動写真

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Lane 1: λ <i>Hind</i> III | Lane 2-5: mouse heart |
| Lane 6-9: mouse kidney | Lane 2, 6: undigested |
| Lane 3, 7: <i>Bam</i> H I digested | Lane 4, 8: <i>Eco</i> R I digested |
| Lane 5, 9: <i>Pst</i> I digested | |

— Total RNA を短時間で抽出 —

Get pureRNA Kit

50 samples ; 同仁品コード (GK04)

細胞、組織、血液からの RNA 抽出

Get pureRNA Kit

1. キット内容

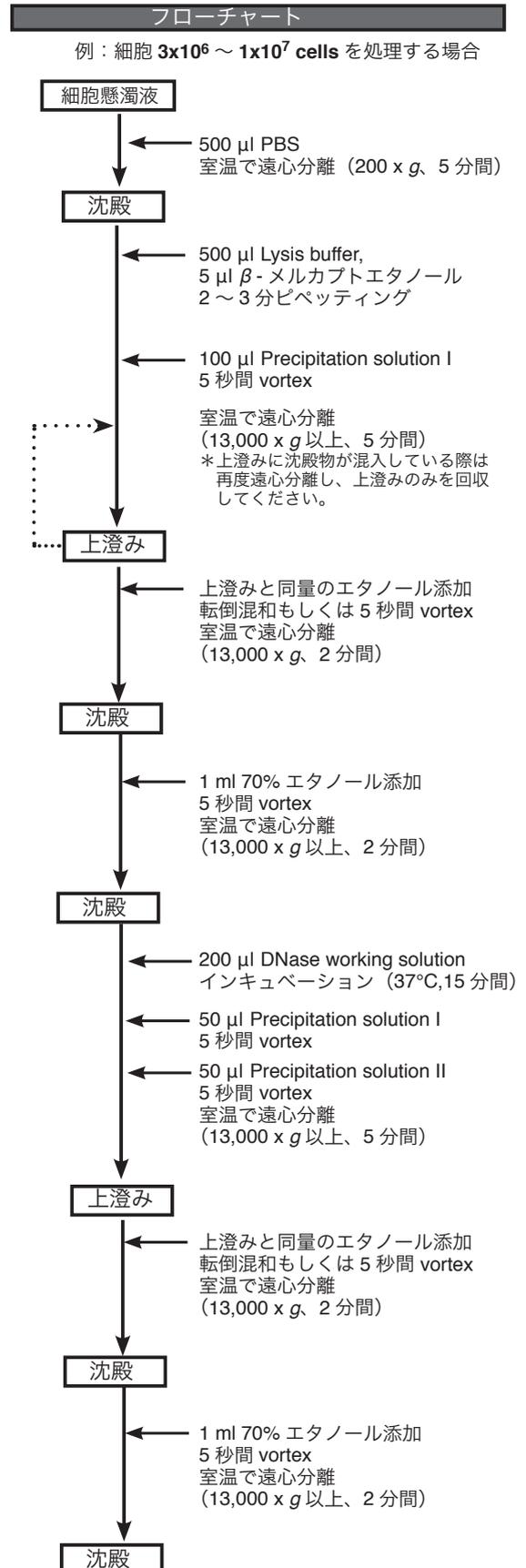
Lysis buffer	13 ml × 2
Precipitation solution I	13 ml × 1
Precipitation solution II	8 ml × 1
DNase	0.55 ml × 1
DNase dilution buffer	12 ml × 1

2. キット以外に必要な試薬・機器類

- ・ β-メルカプトエタノール
- ・ エタノール (100%、70%)
- ・ DEPE 処理水
- ・ PBS buffer (細胞サンプルを処理する場合)
- ・ RNase Free マイクロチューブまたは遠心チューブ
- ・ マイクロピペット及びチップ
- ・ 遠心分離機
- ・ ボルテックスミキサー
- ・ ホモジナイザー (組織からの抽出の場合)
- ・ 37°C 恒温槽またはインキュベーター

表 4-2 Total RNA 回収量とその純度の例

サンプル	回収量 (μg)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀
HeLa cell (1 × 10 ⁷ cells)	90 ~ 150	2.0 ~ 2.2
Balb3T3 cell (1 × 10 ⁷ cells)	90 ~ 150	2.0 ~ 2.2
HL60 cell (1 × 10 ⁷ cells)	30 ~ 60	2.0 ~ 2.2
mouse liver (20 mg)	60 ~ 75	2.0 ~ 2.2
mouse brain (30 mg)	15 ~ 25	2.0 ~ 2.2
mouse kidney (30 mg)	40 ~ 55	2.0 ~ 2.2
mouse heart (30 mg)	7 ~ 15	2.0 ~ 2.2
mouse liver (1 g)	3,800 ~ 4,400	2.0 ~ 2.2
mouse brain (1 g)	700 ~ 1,000	2.0 ~ 2.2
mouse blood (5 ml)	700 ~ 1,200	2.0 ~ 2.2



(開発元：Dojindo Molecular Technologies Inc.)

5. 核酸機能解析用試薬

—タンパク質の同定、接点解析に—

BABE, FeBABE

BABE
FeBABE

10 mg ; 同仁品コード (B437)
1 mg ; 同仁品コード (F279)

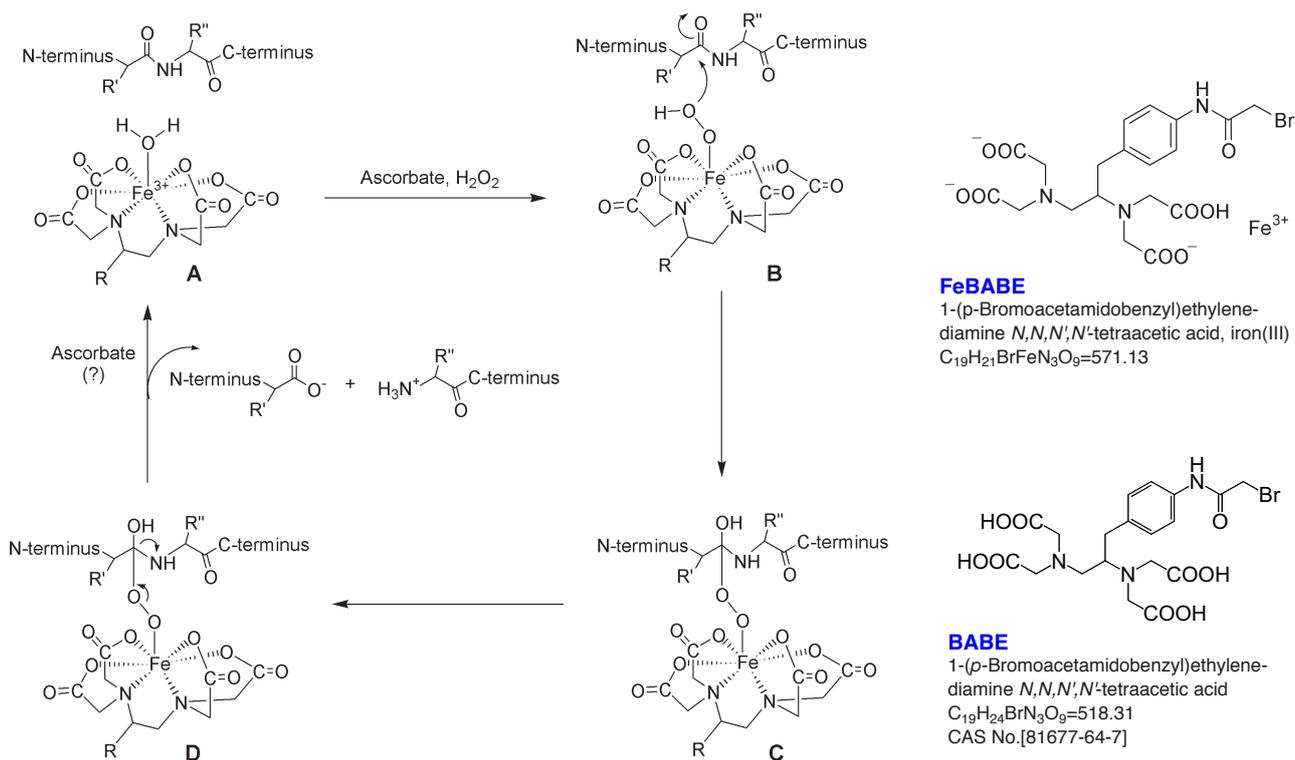
EDTA・Fe 錯体 (FeEDTA) は、還元条件下でラジカルを発生し、生体高分子を切断する性質を利用した「DNA フットプリンティング法」、
「タンパク質フットプリンティング法」が、生命科学では広く利用されている。タンパク質の特定部位に FeEDTA を結合し、その周囲
の接触する核酸やタンパク質を同定し、また接触点を同定する目的で、タンパク結合性の EDTA である BABE や FeBABE が利用され
ている。

BABE は、放射性 $^{111}\text{In}^{3+}$ を結合させ、抗腫瘍性抗生物質であるブレオマイシン A₂ の末端に結合し、その集積でマウスの腫瘍部位を
同定するなどの利用が計られてきた。また FeBABE は、タンパクのペプチド結合と核酸ホスホジエステル結合の両方を選択的に、し
かもアミノ酸配列・ヌクレオチド配列に関係なく、非特異的に切断する活性が注目されている。

BABE、FeBABE はタンパク質のシステイン残基の SH 基と温和な条件で反応する。FeBABE により、アスコルビン酸と過酸化水素
から活性ラジカルを発生させ、ラジカル飛程距離内の核酸やタンパク質の主鎖の切断が起きる。FeBABE の分子構造から推定して、タ
ンパク質システイン残基から 1.2 nm の位置に Fe イオンが配置されるため、切断部位はその周辺に限られる。そのため切断箇所をヌ
クレオチド配列やアミノ酸配列から解析することで、接触していた相手物質とその分子上の接触点を同定することが出来る。従って、タ
ンパク質非結合型の切断試薬では得られない、タンパク質の三次元構造に関する情報を得ることができる。核酸の切断に関してはヒド
ロキシルラジカルを介した酸化反応、ペプチド結合切断の機構としては鉄に配位したペルオキシ中間体によるカルボニル炭素の求
核攻撃説が提唱されている。

FeBABE の利点としては、1) ペプチドやタンパクへ温和な条件で結合できること、2) 温和な条件で開裂反応を行えること、3) 開裂
反応が速く、高収率であること、4) 核酸やタンパク質の主鎖が選択的に切断されるが、ヌクレオチドやアミノ酸配列に影響されない
こと、などが挙げられる。なお、タンパク質のリジン残基や末端アミノ基に、2-iminothiolane (2-IT) を介させることで、FeBABE を標
識する応用法も開発されている。

FeBABE を利用した例としては、大腸菌チトクローム *bd* オキシダーゼのサブユニット I と II の接点の同定、大腸菌 RNA ポリメラー
ゼの $\alpha, \beta, \beta', \sigma$ サブユニット間の接点の同定、大腸菌 RNA ポリメラーゼの遺伝子プロモーター結合域の同定や、リボソームタンパ
ク質の rRNA 結合点の同定などがある。



FeBABE によるペプチド結合の切断機構

- 1) L. H. DeRiemer, *et al.*, *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **1981**, *18*, 1517.
- 2) T. M. Rana *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 2457.
- 3) T. M. Rana, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1991**, *88*, 10578.
- 4) D. P. Greiner, *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, **1997**, *8*, 44.
- 5) E. Platis, *et al.*, *Biochemistry*, **1993**, *32*, 12761.
- 6) S. L. Traviglia, *et al.*, *Biochemistry*, **1999**, *38*, 4259.
- 7) J. B. Ghaim, *et al.*, *Biochemistry*, **1995**, *34*, 11311.
- 8) R. Miyake, *et al.*, *Biochemistry*, **1998**, *37*, 1344.
- 9) J. T. Owens, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, *95*, 6021.
- 10) J. A. Bown, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **1999**, *274*, 2263.
- 11) F. Colland, *et al.*, *EMBO J.*, **1999**, *18*, 4049.
- 12) G. M. Heilek, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, *92*, 1113.
- 13) G. M. Heilek, *et al.*, *Science*, **1996**, *272*, 1659.
- 14) K. R. Lieberman, *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **1998**, *284*, 1367.

6. 核染色用試薬

— DNA, RNA の蛍光染色、使い切りタイプ—

AO

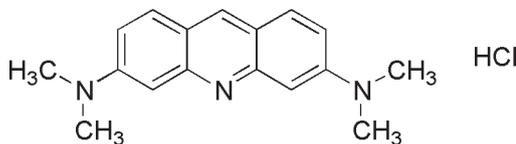
-Cellstain® AO 1 mg ; 349-07441 同仁品コード (A386)
 -Cellstain® AO solution 1 ml ; 348-07911 同仁品コード (A430)
 (1 mg/ml H₂O)

Acridine Orange (AO) は、dsDNA に結合して 526 nm の緑色の蛍光 (励起波長 502 nm) を発し、ssDNA や RNA に結合して 650 nm の赤色の蛍光 (励起波長 460 nm) を発する intercalator である。

二本鎖構造の核酸では、AO は、まずリン酸と静電的に結合して 3 塩基対に対し 1 個の割合で取り込まれる。この時、挿入された AO は互いに隣接することなく単量体で存在するため AO 本来の蛍光スペクトル (526 nm) を示す。一方、一本鎖構造の核酸では、AO は、リン酸基と最大 1 対 1 の割合で静電的に結合し、隣接する AO 分子間で stacking や aggregation を起こす。その結果、単量体の場合と異なる蛍光 (650 nm) を示す。このように AO のみで二本鎖、及び一本鎖型 DNA や RNA を分別染色することができ、Ar レーザーで励起することにより DNA と RNA の同時観察が、また、フローサイトメトリーを用いて同時定量解析ができるという特徴がある。

本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

蛍光特性：(dsDNA) $\lambda_{ex}=502$ nm, $\lambda_{em}=526$ nm、
 (ssDNA) $\lambda_{ex}=420 \sim 460$ nm, $\lambda_{em}=630 \sim 650$ nm



AO
 3,6-Bis(dimethylamino)acridine, hydrochloride
 C₁₇H₂₀ClN₃=301.81
 CAS No.[65-61-2]

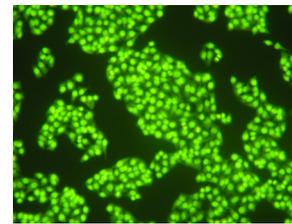


図 6-1 AO による HeLa 細胞の染色
 (x200, B 励起)

— DNA の蛍光染色、使い切りタイプ—

EB, PI

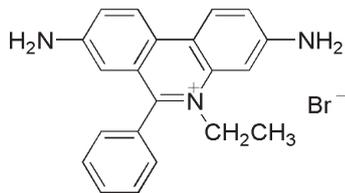
-Cellstain® EB 1 mg ; 346-07451 同仁品コード (E262)
 -Cellstain® EB solution 1 ml ; 348-07891 同仁品コード (E272)
 (1 mg/ml H₂O)
 -Cellstain® PI 1 mg ; 343-07461 同仁品コード (P346)
 -Cellstain® PI solution 1 ml ; 341-07881 同仁品コード (P378)
 (1 mg/ml H₂O)

Propidium iodide (PI) は ethidium bromide (EB) とともに phenanthridium 系染料に分類されるカチオン性の蛍光色素であり、DNA の二重らせん構造に intercalate することにより特有の赤色蛍光が増強される核酸染色色素である。一部は二本鎖構造の RNA と結合するため、正確な DNA 染色のためには、二本鎖構造の RNA の除去が必要である。一般に生細胞の細胞膜は透過せず、死細胞にのみ入り込み核内の DNA に intercalate し赤色蛍光を発する。そのため死細胞染色色素として利用される。また、PI は Calcein-AM や FDA などの fluorescein 系の色素と共に用い、生死細胞の二重染色に数多く用いられ、またフローサイトメトリーへの応用例も数多い。

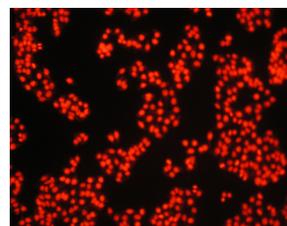
本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

EB 蛍光特性： $\lambda_{ex}=520 \sim 525$ nm, $\lambda_{em}=615$ nm

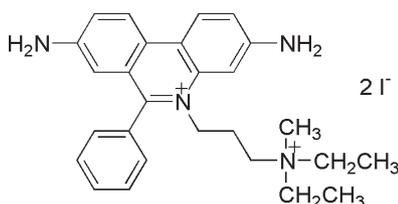
PI 蛍光特性： $\lambda_{ex}=530$ nm, $\lambda_{em}=620$ nm



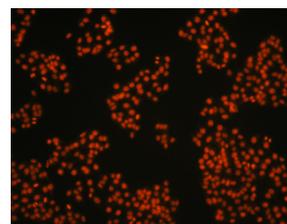
EB
 3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide
 C₂₁H₂₀BrN₃=394.31
 CAS No.[1239-45-8]



EB (x300, G 励起)



PI
 3,8-Diamino-5-[3-(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenylphenanthridinium diiodide
 C₂₇H₃₄I₂N₄=668.39
 CAS No.[25535-16-4]



PI (x200, G 励起)

図 6-3 EB 及び PI による HeLa 細胞の染色

— DNA の蛍光染色、使い切り・高安定性タイプ —

DAPI

-Cellstain® DAPI 1 mg ; 342-07431 同仁品コード (D212)
-Cellstain® DAPI solution 1 ml ; 340-07971 同仁品コード (D523)
(1 mg/ml buffer)

DAPI は 1977 年、抗トリパノソーマ薬の探索のために Dann らによって合成された蛍光性の色素で、蛍光顕微鏡下、酵母のミトコンドリア、葉緑素、ウイルス、マイコプラズマ、染色体中の DNA 検出に使用されている。460 nm に青色の蛍光を持ち（励起波長 360 nm）、DNA の AT 配列に特異的に結合する minor groove binder である。DAPI の光耐性は高く、HBO 200 水銀ランプ、3 mm 厚の BG 12 フィルターの下で Hoechst 33258 の約 2 倍と安定である。

本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

DAPI は通常、溶液での長期保存は難しいとされているが、同仁の DAPI solution は独自の組成により数ヶ月単位での使用が可能である。

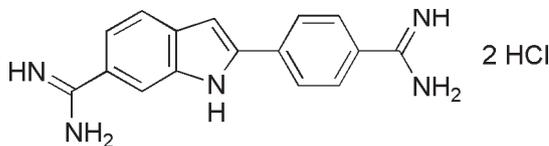
注意事項

DAPI 溶液を作成する場合には、水もしくは緩衝液を使用する。

なお、水に溶解したものは長期保存には適していない。

また、中性の PBS には溶解しにくい傾向があるため、最初に DAPI 粉末を溶解する際には中性の PBS 以外の溶液を使用する。

蛍光特性： λ_{ex} =360 nm, λ_{em} =460 nm



DAPI
4',6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride
 $C_{16}H_{17}Cl_2N_5=350.25$
CAS No.[28718-90-3]

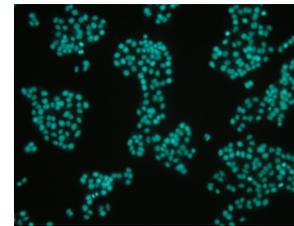


図 6-2 DAPI による HeLa 細胞の染色 (x200, U 励起)

— DNA の蛍光染色、使い切りタイプ —

Hoechst 33258
Hoechst 33342

-Cellstain® Hoechst 33258 solution 1 ml ; 343-07961 同仁品コード (H341)
(1 mg/ml H₂O)
-Cellstain® Hoechst 33342 solution 1 ml ; 346-07951 同仁品コード (H342)
(1 mg/ml H₂O)

核染色剤として一般的に用いられる Hoechst 33258 および Hoechst 33342 を使いやすいように溶液にした製品。

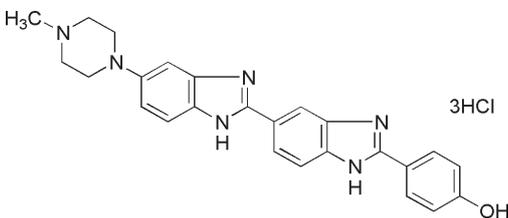
Hoechst 33258 および Hoechst 33342 は DNA に結合する蛍光色素であるが、生細胞に容易に取り込まれる。また、DNA の AT 配列の副溝に結合し、染色体分析などにも用いられる。

本製品は変異原性があるため、溶液タイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

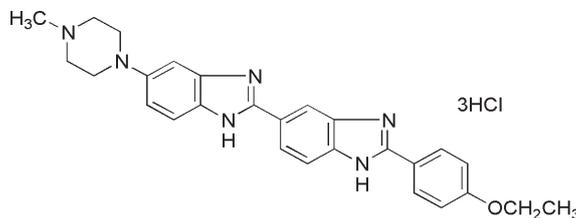
蛍光特性：

Hoechst 33258 λ_{ex} =350 nm, λ_{em} =461 nm

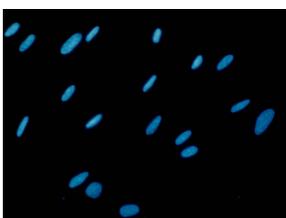
Hoechst 33342 λ_{ex} =352 nm, λ_{em} =461 nm



Hoechst 33258
2'-(4-Hydroxyphenyl)-5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2,5'-bi-1H-benzimidazole, trihydrochloride
 $C_{25}H_{27}Cl_3N_6O=533.88$
CAS No.[23491-44-3]



Hoechst 33342
2'-(4-Ethoxyphenyl)-5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2,5'-bi-1H-benzimidazole, trihydrochloride
 $C_{27}H_{31}Cl_3N_6O=561.93$
CAS No.[23491-52-3]



Hoechst 33258 (WU 励起)



Hoechst 33342 (WU 励起)

図 6-4 正常ヒト胎児由来細胞を 1% グルタルアルデヒド /PBS(-) で固定化した後に染色した。

7. 分子生物学用 Agarose

アガロースは電気泳動の支持体として広く使用されており、核酸（DNA, RNA）の分離・分析に用いられる。分子生物学用として、DNase free, RNase free の規格品を用意している。

Agarose 900

25 g ; 341-07842 同仁品コード (A426)
100 g ; 343-07841 同仁品コード (A426)

一番汎用されるアガロースで 10 kbp 以下の DNA の分析に向いている。1% のアガロースで 1 ~ 6 kbp の DNA を分析できると言われている。

ゲル強度	800 g/cm ² 以上	DNase 活性	不検出
凝固温度	35 ~ 40°C	RNase 活性	不検出
融解温度	87 ~ 91°C		

Agarose 1500

25 g ; 344-07832 同仁品コード (A427)
100 g ; 346-07831 同仁品コード (A427)

アガロースゲルが通常の方法で分析し得る範囲はアガロースのポアサイズから考えて 20 kbp までであると言われているが、10 数 kbp の DNA についてもゲル強度の小さいアガロースゲルを用いると検出前にゲルが崩れてしまう危険性がある。Agarose 1500 はゲル強度が 1500 g/cm² であるために、低濃度のゲルでも崩れにくいアガロースである。

ゲル強度	1,400 g/cm ² 以上	DNase 活性	不検出
凝固温度	35 ~ 40°C	RNase 活性	不検出
融解温度	91 ~ 95°C		

8. 分子生物学用 Buffer

分子生物学研究において、緩衝液として何を用いるかということは重要な要素となる。

目的の核酸を分解させないためには核酸を分解する酵素（DNase, RNase）が検出されないということも基本的な項目である。

分子生物学において汎用される液体 Buffer を各種取り揃えており、いずれの製品も DNase, RNase 不検出である。

品名	容量	コード	同仁品コード	規格
10x MESA	1L	344-07491	MB02	0.4 mol/l MOPS, pH 7.0(±0.1, 25°C), 0.1 mol/l sodium acetate, 10 mmol/l EDTA 性状：黄色液体 DNase, RNase: 不検出
10x TBE	1L	344-07511	MB04	0.89 mol/l Tris-borate, pH 8.3(±0.1, 25°C), 20 mmol/l EDTA 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出
10x TE	500 ml	344-07555	MB08	0.1 mol/l Tris-HCl, pH 8.0(±0.1, 25°C), 10 mmol/l EDTA 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出
20x SSC	500 ml	340-07535	MB06	0.3 mol/l sodium citrate, 3.0 mol/l sodium chloride 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出
20x SSPE	500 ml	347-07545	MB07	0.2 mol/l phosphate, pH 7.4(±0.1, 25°C), 2.98 mol/l sodium chloride, 0.02 mol/l EDTA 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出
1M Tris-HCl	500 ml	348-07575	MB10	pH 8.0 (±0.1, 25°C) 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出
0.5M EDTA	1L	347-07481	MB01	0.5 mol/l EDTA, pH 8.0(±0.1, 25°C) 性状：無色液体 DNase, RNase: 不検出 ファクター: 0.95 ~ 1.05

9. 分子生物学用 Good's Buffer

生化学分野において優れた緩衝剤として幅広い研究に使用されている Good's Buffer を分子生物学用として商品化している。高純度であり、全ての商品で DNase, RNase 不検出を確認している。エンドトキシン試験済みであり (*一部商品を除く)、安心して使用いただきたい。

品名	容量	コード	同仁品コード	規格
ACES	20 g	342-08271	GB73	純度 99.5% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出
ADA	20 g	349-08281	GB74	
BES	20 g	346-08291	GB75	
Bicine	20 g	349-08301	GB76	
Bis-Tris	20 g	346-08311	GB77	
CAPS	20 g	343-08321	GB78	
CHES	20 g	340-08331	GB79	
EPPS	20 g	347-08341	GB80	
HEPES	20 g	340-08233	GB70	純度 99.7% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出
	100 g	344-08231		
	500 g	346-08235		
MES	20 g	344-08351	GB81	純度 99.5% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出
MOPS	20 g	347-08243	GB71	純度 99.5% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出
	100 g	341-08241		
	500 g	343-08245		
PIPES	20 g	344-08253	GB72	純度 99.7% 以上 DNase, RNase 不検出
	100 g	348-08251		
	500 g	340-08255		
TAPS	20 g	341-08361	GB82	純度 99.5% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出
TES	20 g	348-08371	GB83	
Tricine	20 g	345-08381	GB84	純度 99.5% 以上 エンドトキシン試験済み DNase, RNase 不検出

pKa(20°C)	化合物	5	6	7	8	9	10	11
6.15	MES		5.5	7.0				
6.46	Bis-Tris		5.7	7.3				
6.60	ADA		5.8	7.4				
6.80	PIPES		6.1	7.5				
6.90	ACES		6.0	7.5				
7.15	BES			6.6	8.0			
7.20	MOPS			6.5	7.9			
7.50	TES			6.8	8.2			
7.55	HEPES			6.8	8.2			
8.0	EPPS				7.5	8.5		
8.15	Tricine				7.8	8.8		
8.35	Bicine				7.7	9.1		
8.4	TAPS				7.7	9.1		
9.5	CHES					8.6	10.0	
10.40	CAPS						9.7	11.1

URL: <http://www.dojindo.co.jp>
E-mail: info@dojindo.co.jp

Free dial: 0120-489548
Free fax : 0120-021557

*ご注意

○掲載内容 (製品・包装など) はパンフレット編集時におけるものであり、予告無く変更することがあります。
○試験・研究用です。医薬品としては使用できません。

株式会社 同仁化学研究所

熊本県上益城郡益城町田原 2025-5 熊本テクノ・リサーチパーク 〒861-2202
Tel.096-286-1515 (代表) Fax.096-286-1525

ドージン・イースト (東京)

東京都港区芝大門 2-1-17 朝川ビル 7F 〒105-0012
Tel.03-3578-9651 (代表) Fax.03-3578-9650

23. 06. 01