

### 実験に使用する溶液のレシピ

#### ●ハイブリバッファー (30mL 作成の場合)

01. 以下の試薬を 30mL チューブに混合する。
  - ・超純水：約 15ml
  - ・20xSSC: 1.5ml
02. 電子レンジで突沸しないよう注意しながら温める。体感 60°C(ぎりぎり触れない)くらい
03. 十分に温まったら Dextran sulfate 3g を混合し、よく混ぜる。
04. 完全に溶けたら、以下を加える。
  - ・10%Tween20：0.3mL (0.1%)
  - ・50mg/mL Heparin：30uL (50  $\mu$ g/mL)
  - ・50xDenhardt's：0.6mL (1x)
05. 超純水で 30mL の目盛りまでメスアップし、よく混合する。
06. -20°Cで保存する。

#### ●Amplification バッファー (100mL 作成の場合)

01. 以下の試薬を 100mL チューブに混合する。

試薬：必要量 (最終濃度)

  - ・20xSSC：40mL (8x)
  - ・1M MgCl<sub>2</sub>：10mL (100mM)
  - ・超純水：30mL 程度
02. 電子レンジで 60°C程度に温める。
03. Dextran sulfate：10g (10%) を加え、37°C overnight で溶解する。
04. Dextran sulfate が溶けたら 20%Triton：1mL (0.2%) を加える。
05. 超純水で 100mL にメスアップ。
06. チューブに分注し、使用分は 4°C、stock は-20°C凍結保存。4°C保存のものも、使用前に 1 時間ほどかけて室温に戻し、必ず vortex してから使用する。

#### ●0.5XSSCT (100mL 作成の場合)

01. 以下の試薬を混合する。
  - ・20xSSC：2.5mL (0.5x)
  - ・10%Tween20：1mL (0.1%)
02. 超純水で 100mL にメスアップ。
03. 室温保存。

#### 試薬リスト(記載が無ければ特に指定なし)

ヘパリン(Wako) #081-00136(他のメーカーでも可)

Dextran sulfate 500,000(Wako) #193-09981(分子量が少ないものは効果が薄い)