

Technical Data

Midori Green Advance 使用時におけるゲルの厚さ検討

評価製品

Midori Green Advance (FastGene, Cat.No.NE-MG04)

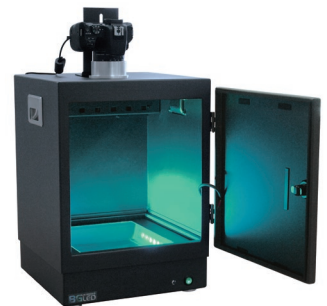
目的

Midori Green Advance (MGA) を使用したDNAゲル電気泳動/DNA染色で、鮮明な泳動像を得るために適したゲルの厚さを検討する。



試薬および機器

- 2%アガロースゲル
1×TAE (10×TAE nacalai tesque, Cat.No. 35430-61を希釈して使用)
アガロース (FastGene, Cat.No. NE-AG02)
- 泳動DNAサンプル
100 bp DNA Ladder PLUS (FastGene, Cat.No. NE-MWD100P)
6×KAPA DNA Loading Dye (KAPA, Cat.No. KD6300)
- 電気泳動
電気泳動装置: Mupid-exU
泳動条件: 100V、30分
泳動バッファー: 1×TAE
- ゲル撮影
撮影装置: FAS-Digi Pro (日本ジェネティクス株式会社, Cat.No. GP-07LED)

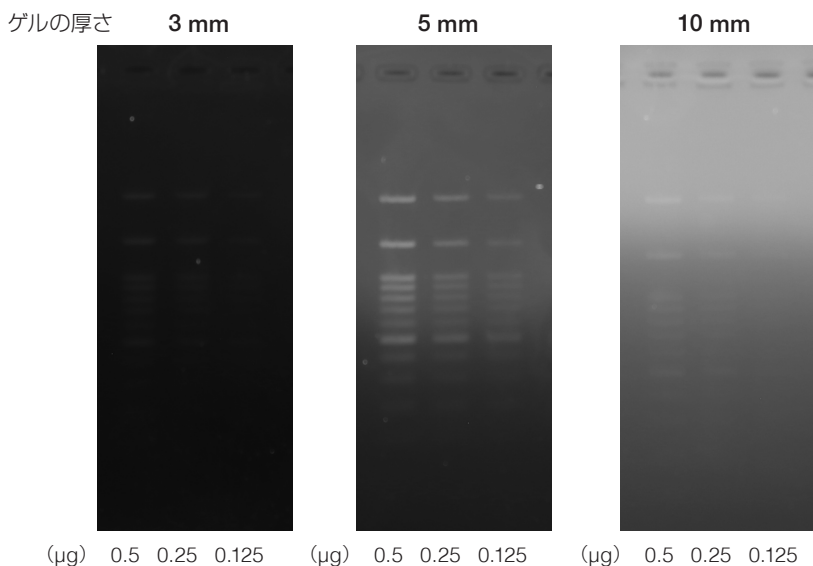


FAS-Digi Pro

実験① 先染め法

方法 : TAE バッファー 100 mLあたりにアガロース 2 g、MGAを4 μ L 添加し、厚さ 3 mm、5 mm、10 mmのゲルを作製した。
このゲルを用いて、DNAラダーを0.5 μ g、0.25 μ g、0.125 μ g/wellの濃度で電気泳動を行い、撮影をした。
撮影条件: F=8, Exposure 2.0 sec, ISO=200

結果



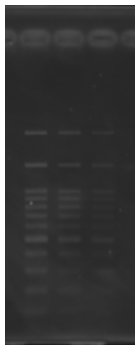

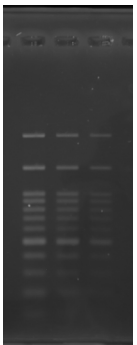





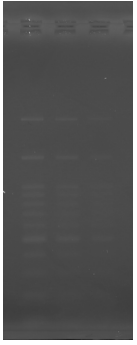
3 mmでは十分な輝度が得られない。
一方10 mmではゲル由来のバックグラウンド
が強く観察される。

結論: 先染め法においては、ゲルの厚さは5 mmが最適である。

実験② 後染め法

方法 : TAE バッファー 100 mLあたりにアガロース 2 gを 添加し、厚さ 3 mm、5 mm、10 mmのゲルを作製した。
このゲルを用いて、DNAラダーを0.5 μ g、0.25 μ g、0.125 μ g/wellの濃度で電気泳動を行った。
MGAをTAE バッファー 100 mLあたり 10 μ Lを添加した溶液で、5分、15分、30分ゲル染色し、撮影を行った。
撮影条件: F=8, Exposure 0.8 sec, ISO=200

結果

ゲルの厚さ	染色時間		
	5分	15分	30分
3 mm	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125
5 mm	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125
10 mm	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125	 (μg) 0.5 0.25 0.125

結論：後染め法においては、ゲルの厚さは3 mmから5 mmが適している。

(参考) 後染め法：ゲルの厚さ3 mmおよび5 mm使用感について

ゲルの厚さ	メリット	デメリット
3 mm	<ul style="list-style-type: none"> 染色のバックグラウンドが抑えられ、S/N比が高くきれいな泳動像が得られる 	<ul style="list-style-type: none"> ゲルが薄いため壊れやすく、特にゲルの濃度が低い場合は、慎重に取り扱う必要がある アプライできるサンプル量が少ない
5 mm	<ul style="list-style-type: none"> 比較的厚みがあるため、ゲルが壊れにくく、取り扱いがしやすい 	<ul style="list-style-type: none"> 染色のバックグラウンドが若干高い

まとめ

ゲルの厚さが取得できる画像に大きく影響を与えることが分かった。

MGAを用いて染色を行う際、厚さを意識してゲル作製することが、鮮明な泳動像を得るためのポイントである。

先染めの場合：5 mm程度にする 後染めの場合：5 mm以下にするのが望ましい