



Application

## プラスミドの制限酵素による切断とDNA断片の確認

製品名 ミドリグリーンアドバンス (Cat No. NE-MG04)

メーカー名 日本ジェネティクス株式会社

製品名 FAS-Digi (Cat No. FAS-DGMU, FAS-DGDC-LX, LB-16BG)

メーカー名 日本ジェネティクス株式会社

下記のデータは、東京医科大学 生化学分野 高野 直治 様、森谷 昇太 様のご厚意により掲載させて頂きました。

### 本実験の目的

学生実習において、プラスミドの制限酵素マップの描き方と制限酵素の働きについて学ぶため、本実験を行った。プラスミドを制限酵素処理により切断し、電気泳動にて切断後のDNA断片の長さを確認した。



### 実験方法

1.5mL チューブにて 下記通りの溶液を調製する。

プラスミド (サンプル) (100ng/μL)	5 μL
TOYOBO 10×H buffer	5 μL
超純水 (H <sub>2</sub> O)	40 μL
total	50 μL×4本

上記で調製したチューブに、制限酵素を2.5 μLずつ加える。(右図参照)

↓  
タッピングを行いよく混ぜる。

↓  
卓上遠心機で遠心：5sec

↓  
37°Cウォーターバスにてインキュベーション：1h

↓  
10x ローディングバッファー 5 μL を加える (ニッポンジーン：313-90111)

↓  
タッピングを行いよく混ぜる

↓  
右図のように、先染めゲルにサンプルをアプライする。

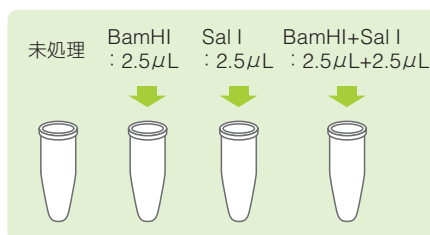
↓  
電気泳動：100 V

↓  
バッファー：TBE

↓  
ローディングバッファーに含まれる青い色素が、ゲル全体の1/2まで進んだら泳動を終了する。  
(LEDトランスイルミネーターでDNAのバンドを観察する。)

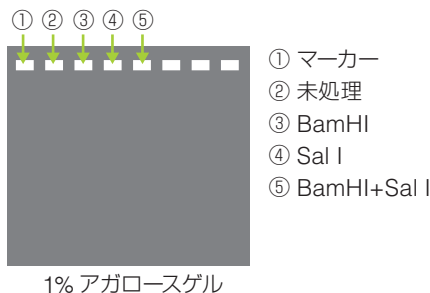
↓  
ゲル撮影を行い、結果を確認する。

プラスミドに4通りの制限酵素処理を行う。



SalI, BamHI：TOYOBO社

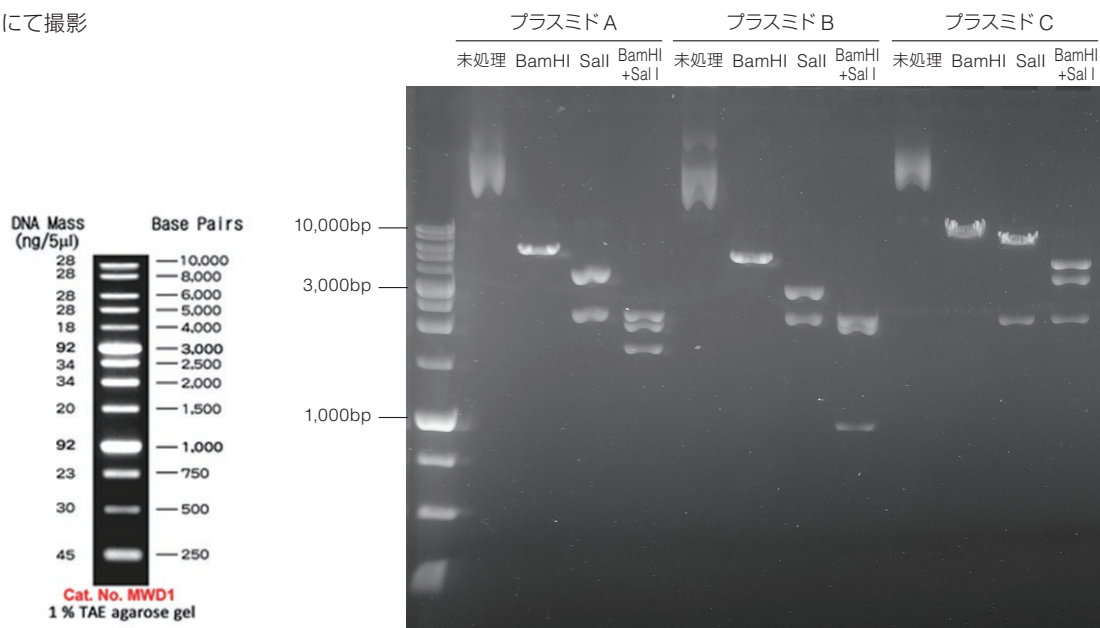
卓上遠心機  
NE-NG002B





## 実験結果

FAS-Digiにて撮影



プラスミドの制限酵素マップの描き方、制限酵素の働きについて学ぶ学生実習に使用しました。エチプロでは、ゲルの先染めを行うとエチプロの汚染エリアが拡大してしまうといった問題がありましたがミドリグリーンではそのような問題がなく、泳動後、すぐに結果を確認できるため助かっています。安全かつ、従来のエチプロ後染めにかかっていた分の時間を節約できました。



お客様のコメント

悪かった点は、ゲルの先染めを行うと、低分子側の染色が弱くなることですが泳動を行いながらLEDで観察することができるので、ちょうどよいところで泳動をストップでき、特に問題にはなっていません。