

# ミドリグリーン Direct

Cat.No.	概要	包装単位
NE-MG05	Midori Green Direct DNA Stain 【トライアルキット】	50 $\mu$ L
NE-MG06	Midori Green Direct DNA Stain	1 mL

ミドリグリーンDirectは、エチジウムブロマイド(EtBr)に替わる安全なDNA蛍光染色試薬です。

## 【特長】

- EtBrに比較してより安全なアガロース電気泳動用核酸染色用試薬です。
- EtBrと検出感度は、ほぼ同等です。
- DNAやRNAと結合し、緑色の蛍光を発します。
- 励起波長：490nm付近に強い1次ピーク、~290nmに2次ピークがあります。
- 蛍光波長：~530nmです。
- サンプルローディングDye入りなので、サンプルに混ぜるだけです。  
(ご注意：ゲルに混ぜる“先染め”、および電気泳動後の“後染め”にはご使用いただけません。)
- サンプルに混ぜるため、ゲルのバックグラウンドが低く、高いS/N比が得られます。

## 【保存期間】

- **必ず遮光保存してください!**
- 室温で1年間保存できます。
- 4 $^{\circ}$ C保存も可能です。

## 【安全性】

ミドリグリーンDirectは、非発癌性です。エームス試験の結果、EtBrよりも圧倒的に低い変異原性を示しました。また、ラテックスグローブや細胞膜へ浸透性がないことが確認されました。

## 【電気泳動用色素について】

ミドリグリーンDirectには、電気泳動用色素としてBPB（プロモフェノールブルー）が添加されております。BPBの移動度の目安は、1%アガロースゲルで約500bp、2%アガロースゲルでは約150bpに相当します。本試薬は、このBPBにより通常は青色を呈しておりますが、保管状況により黄色に変色する場合があります。これは、バッファの僅かなpHの変化（大気中の二酸化炭素などの影響による）でBPBが変色したものであり、本来の性能には全く影響がございませんので、そのまま通常どおりご使用いただけます。（黄色に変色した場合でも、サンプルと混合すると元の青色に戻ります。）

## 【使用方法】

- ① アガロースゲル溶液を任意の方法で作製してください。（オートクレーブ、電子レンジ等を使用）
- ② ゲルをゲル作製用トレーに流し込んでください。（ゲル厚を0.5cm以下にすることが染色の成功につながります）
- ③ 一般的なローディングDyeを添加、混合する操作と同様に、ミドリグリーンDirectをサンプルおよびDNAマーカーとそれぞれ1：10（dye：sample）の比率で混合してください。ラダーマーカーに関しては、ラダーマーカー5 $\mu$ LあたりミドリグリーンDirect 1 $\mu$ Lを目安に添加してください。

注) DNAの量が少なくなってくると、移動度が遅くなる場合があります。このとき、ミドリグリーンDirectを一般的なローディングDyeで4倍に希釈することで移動度のズレを補正できます。詳しくは、2ページ目からの技術資料をご確認ください。

- ④ 混合したサンプルをゲルの各ウェルにアプライし、電気泳動してください。
- ⑤ 泳動結果は、UVまたはBlue/Green LEDイルミネータで検出してください。

### \* 検出について

- Blue/Green LEDイルミネータのほうが、より高感度に検出可能です。
- UVイルミネータでは、SYBRGreen用フィルターを使用すると、より高感度に検出できます。

注) ミドリグリーンDirectの添加量がDNAに対して多過ぎる場合、検出したバンドが波打ったように見える場合があります。この場合、添加量を減らしてください。

## 【注意】

- 作製するゲル厚は、0.5cm以下にすることが染色の成功につながります。
- 一般的な試薬の取扱いと同様に、取扱いは十分ご注意ください。操作時には、グローブをご着用ください。使用後は、各施設の基準に従って廃棄してください。
- ミドリグリーンDirectは、電気泳動でのDNAバンドの確認を目的として開発されましたため、DNAを定量する目的に関しましては、検証されていません。

## さまざまな濃度のDNAを泳動する時のMidori Green Directの使用方法

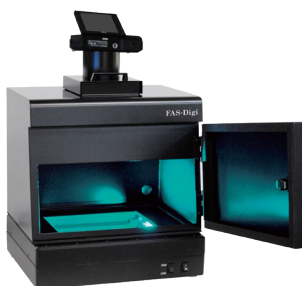
### ● 目的

Midori Green Directを一定量でサンプルと混合した場合、DNA量が少なくなってくると、移動度が遅くなる。この理由は、Midori Green Directがプラスチャージを持ち、電気泳動時にDNAの移動方向とは逆方向に進もうとするため、DNA量が十分であれば問題ないが、DNA量が少なくなると次第に移動度の影響を受けやすくなるためである。そこで、Midori Green Directを希釈により添加量をコントロールすることで、移動度が補正できるかを検討した。

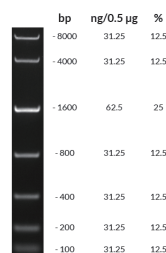
### ● 評価方法

DNAの希釈と共に、Midori Green Directも希釈することで移動度補正できるかを検討した。

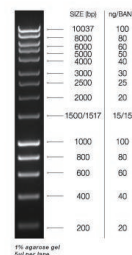
### 使用機器と使用試薬



Fas-Digi  
 ダークボックス本体のみ  
 (Cat No. FAS-DGMU)  
 Fas-Digi専用デジタルカメラ  
 (Cat No. FAS-DGDC-MX1)  
 Blue/Green LEDイルミネーター (500nm)  
 (Cat No. LB-16BG)  
 Blue LEDイルミネーター (470nm)  
 (Cat No. LB-16K)  
 UVトランスイルミネーター 中波長(302nm)  
 (Cat No. MB-16K)



KAPA Express Ladder  
 (Cat No. KK6302)



HyperLadder 1kb  
 (Cat No. BIO-33025)



Midori Green Direct  
 (MGD)  
 (Cat No. NE-MG06)



FastGene™  
 アガロース  
 (Cat No. NE-AG02)



セーフブルー電気泳動  
 フルシステム  
 (Cat No. MBE-150PLUS)

### 実験手順

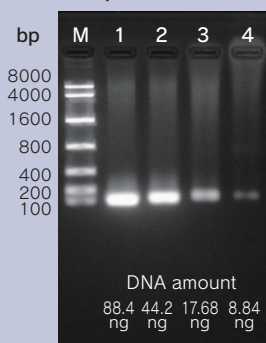
- ① アガロースゲルを任意の方法で作製する。
- ② 一般的な×5～×6のLoading DyeでMidori Green Directを2-4倍に希釈する。  
 (ここでは、それぞれのLadderに付属のLoading Dyeを使用)
- ③ 希釈したMidori Green Directをサンプルと1 : 10 (希釈したMidori Green Direct : サンプル) の比で混合する。
- ④ 混合したサンプルをゲルの各ウェルにアプライし、電気泳動する。
- ⑤ 泳動結果はUVまたはBlue/Green LEDイルミネーターで検出する。  
 ※ Ladderは、希釈していないMidori Green Directを1 : 5 (Midori Green Direct : Ladder) の比で混合

次ページで  
 解決法が  
 わかります...

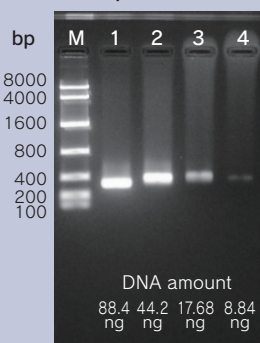


### DNA量が少なくなると、移動度が変わる実例

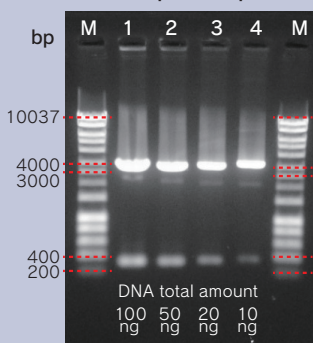
98bp PCR産物



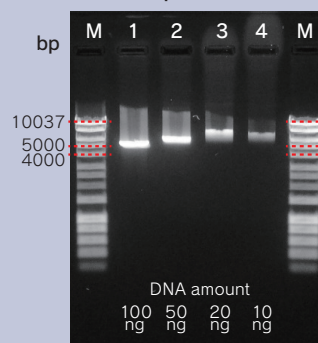
295bp PCR産物



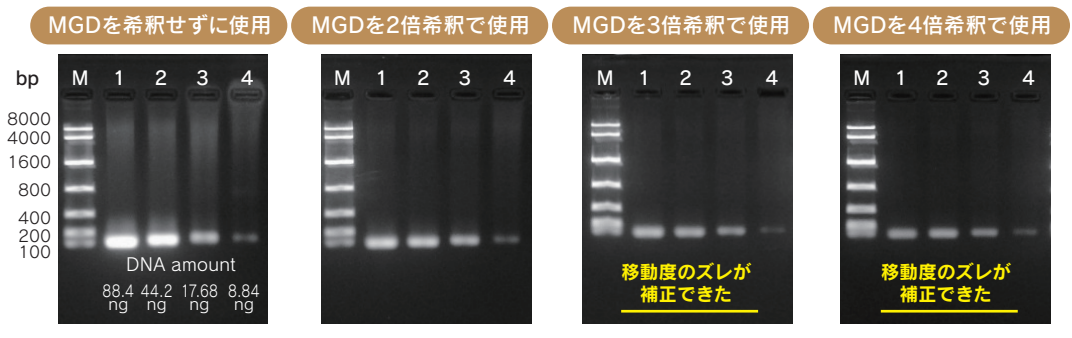
pTA2vector double cut  
 (2981bp/295bp)



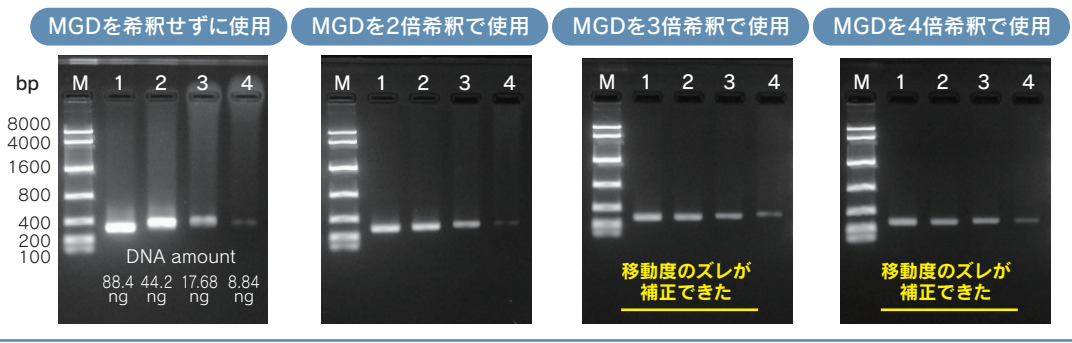
pBR322 single cut  
 (4361bp)



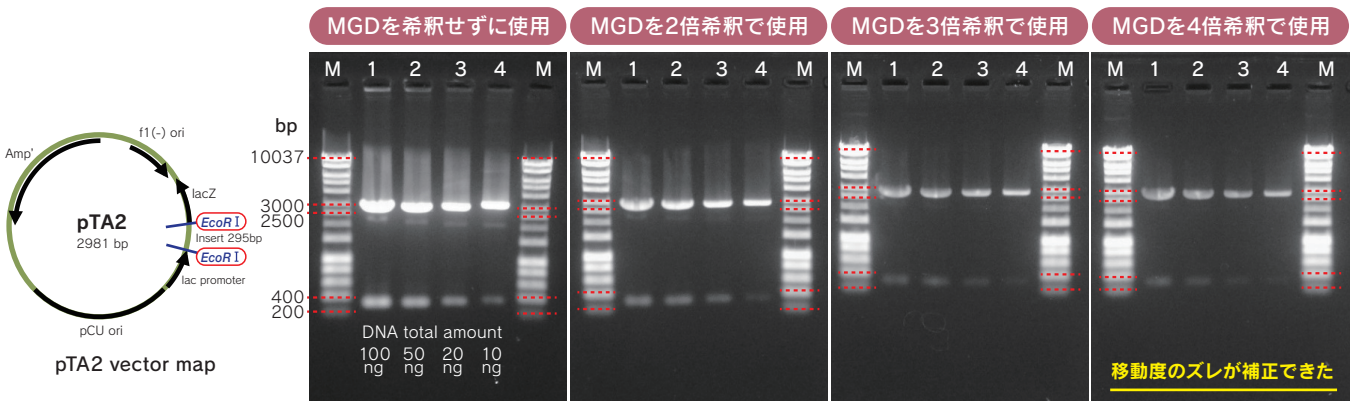
### 例1) 98bp PCR産物



### 例2) 295bp PCR産物

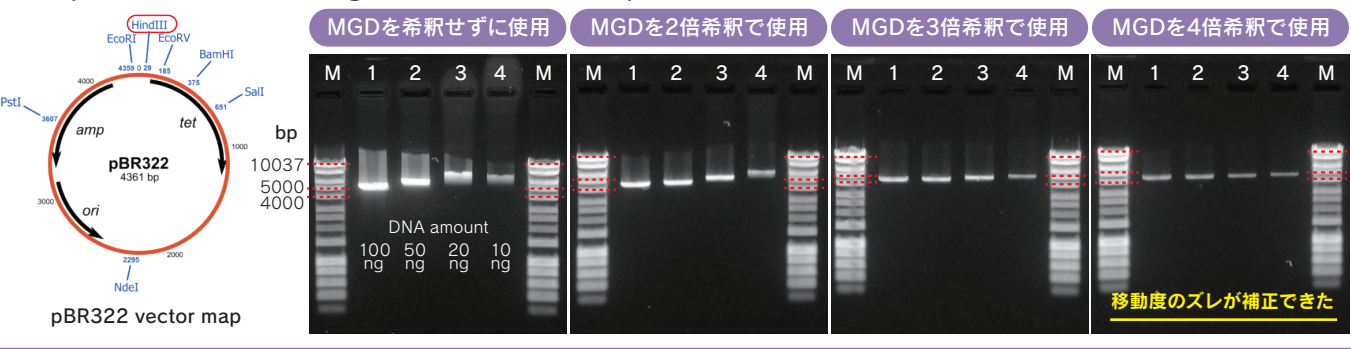


### 例3) pTA2vectorを *EcoRI* でdouble cutしたDNA (vector: 2981bp insert: 295bp)



※ vector に対する insert の量が少いため、露光時間を長くして撮影

### 例4) pBR322を *HindIII* でsingle cutしたDNA (4361bp)



- M : マーカー  
 1 : 希釈なし  
 2 : DNAを2倍希釈  
 3 : DNAを5倍希釈  
 4 : DNAを10倍希釈 Midori Green Directは各マーカーに付属のLoading Dyeを用いて希釈





- 泳動条件  
 例1, 2) サンプル量 10 $\mu$ L/well  
 1.5% アガロース / TAE  
 100V, 30min  
 例3, 4) サンプル量 10 $\mu$ L/well  
 0.8% アガロース / TAE  
 100V 40min

### ● まとめ

- ・98bp、295bp、2981bp、4361bpのバンドを泳動する際には、Midori Green Directを4倍希釈することで移動度が補正できた。
- ・Midori Green Directは、約10ng程度のDNA量でもバンドが確認できた。(ただし、double cutしたDNAを確認する際には、露光時間を長めに設定する)

※注意: Midori Green Directを希釈した状態での保存安定性は検討しておりません。希釈はご使用時に行ってください。



**Genetics** 日本ジェネティクス株式会社  <http://www.n-genetics.com>  [info@genetics-n.co.jp](mailto:info@genetics-n.co.jp)  
〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階  TEL 03 (3813) 0961  FAX 03 (3813) 0962

本製品はライフサイエンス分野における研究での使用を目的としています。仕様は2017年11月現在のものです。製品は改良のため予告なく変更する場合があります。

M0076