



Technical Data

Blue/Green LEDとミドリグリーンシリーズの有効性

評価製品

イルミネーター : Blue/Green LED, UV
核酸染色試薬 : Midori Green Direct, Midori Green Advance, EtBr

目的

プラスミドDNAのゲルピックアップ時におけるイルミネーターの光源の種類と核酸染色試薬の影響を評価した。

評価方法

電気泳動したプラスミドDNAをピックアップする際に、イルミネーターと核酸染色試薬を下記の組み合わせで使用した。

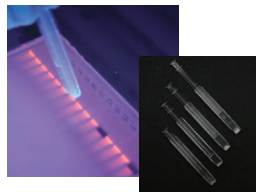
イルミネーター光源	核酸染色試薬
① Blue/Green LED	+ Midori Green Direct (MGD)
② Blue/Green LED	+ Midori Green Advance (MGA)
③ Blue/Green LED	+ EtBr
④ UV	+ Midori Green Direct (MGD)
⑤ UV	+ Midori Green Advance (MGA)
⑥ UV	+ EtBr

トランスフォーメーション後、コロニーの数をカウントすることによって、イルミネーターと核酸染色試薬の影響を評価した。

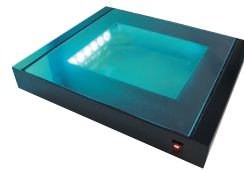
使用機器と使用試薬



FastGene™
アガロース
(Cat No. NE-AG02)



FastGene™
ゲルバンドカッター
(Cat No. FG-830)



Blue/Green
LEDイルミネーター
(Cat No. LB-16BG)



核酸染色試薬
Midori Green Direct
(MGD)
(Cat No. NE-MG06)
Midori Green Advance
(MGA)
(Cat No. NE-MG04)



ゲル抽出キット
FastGene™
Gel/PCR Extraction
(Cat No. FG-91302)

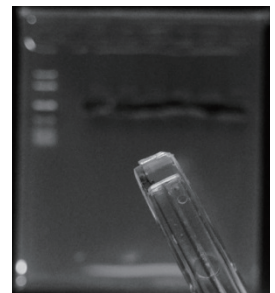
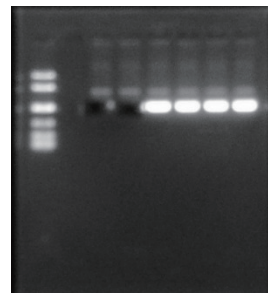


ゲル撮影/コロニー撮影
FAS-LED BOX
(Cat No. FAS-BOX)

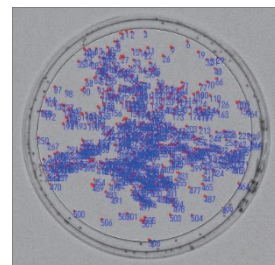
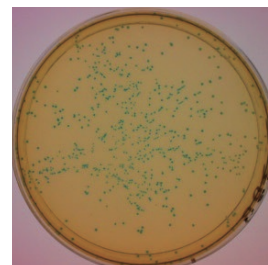
実験手順

- ① プラスミド (pUC19) を500ng/lane, 0.8% アガロースゲル, 100V 30minで泳動する。
- ② FastGene™ ゲルバンドカッターでバンドをピックアップする。
イルミネーター: a) Blue-Green LED
b) 302nm UV (中波長)
c) 365nm UV (長波長)
ゲルピックアップ時間: 30sec, 1min, 2min, 5min, 10min
- ③ FastGene™ Gel/PCR Extraction kitで精製する。
DNAを測定 : Impren 分光光度計 (3.0μL)
- ④ 単離した40ng プラスミド (pUC19) をトランスフォーメーションする。
Host : 50uL of E. coli DH5a (Toyobo #DNA-903)
Reporter gene : Lac-Z
- ⑤ コロニーをカウントする。
Scanning : FAS-LED-BOX
Counting : Gel-Pro Analyzer v6.3

ゲルピックアップ例



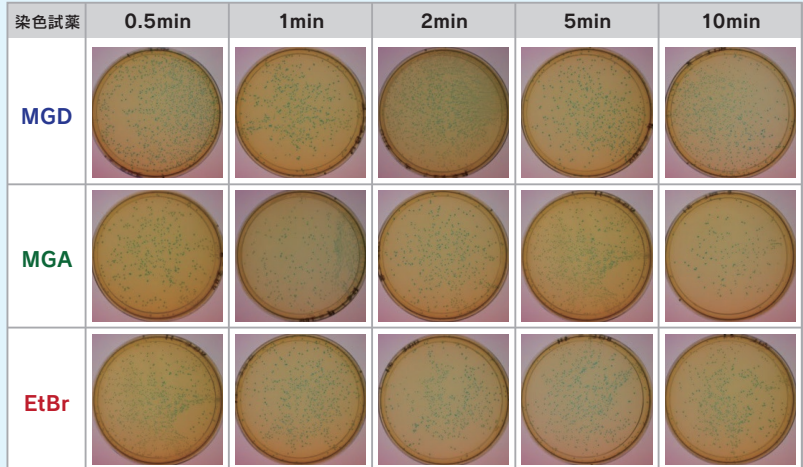
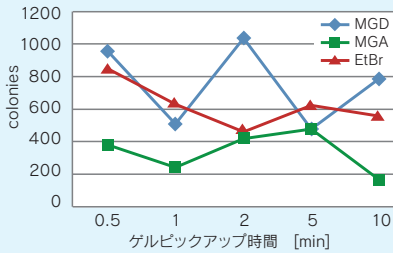
コロニーカウント例



結果
イルミネーター Blue/Green LED

各核酸染色試薬におけるコロニー数

染色試薬	0.5min	1min	2min	5min	10min
MGD	957	508	1037	476	785
MGA	380	243	420	478	167
EtBr	848	631	460	624	556

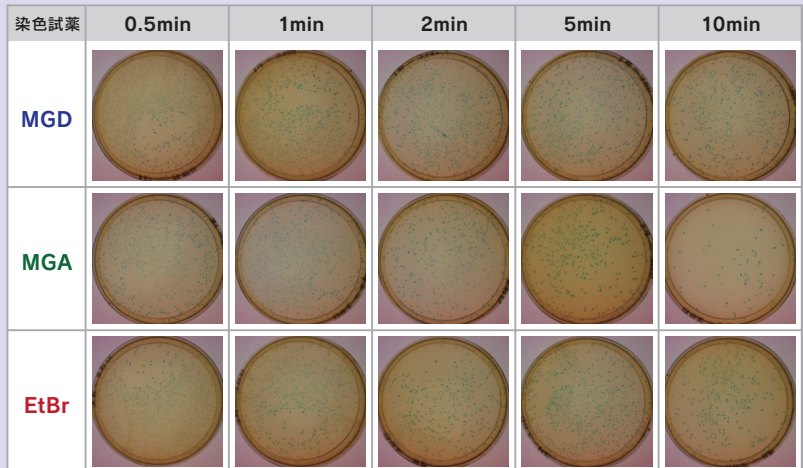
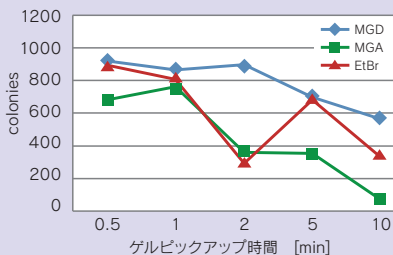


コロニー数と照射時間の明確な相関は見られなかった。

イルミネーター UV (365nm)

各核酸染色試薬におけるコロニー数

染色試薬	0.5min	1min	2min	5min	10min
MGD	919	864	897	699	563
MGA	681	763	360	352	68
EtBr	895	809	292	683	329

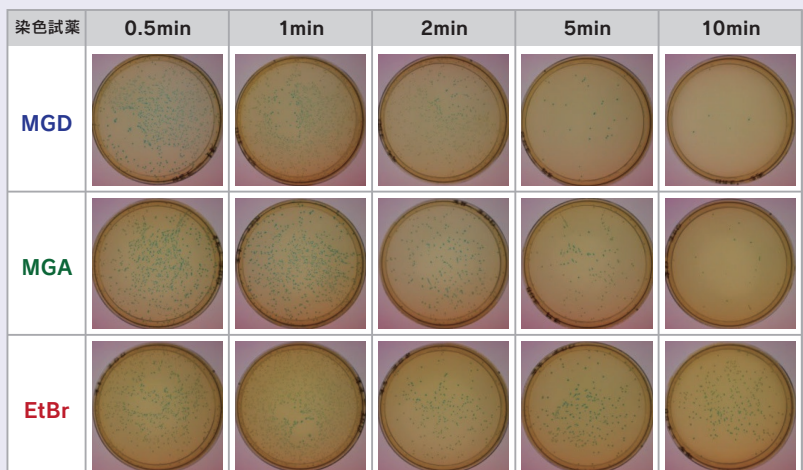
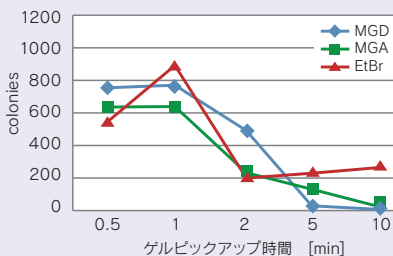


照射時間に従って、コロニー数が減少する傾向が確認された。

イルミネーター UV (302nm)

各核酸染色試薬におけるコロニー数

染色試薬	0.5min	1min	2min	5min	10min
MGD	755	770	492	29	6
MGA	635	639	231	131	21
EtBr	535	893	199	229	267



照射時間1-2minで急激にコロニー数の減少が確認された。

まとめ

~プラスミドDNAのゲルビックアップ時におけるイルミネーターの光源の種類と核酸染色試薬がトランスフォーメーションに及ぼす影響について~
 UVは照射時間に従って、トランスフォーメーションのコロニー数を減少させる傾向があることが認められた。また、UV照射時間1分から2分でコロニー数が大きく減少していることから、中波長UV (302nm)、長波長UV (365nm) とともにUV照射2分程度でプラスミドDNAにダメージを与える傾向があることが確認された。一方、色素においては顕著な差は認められなかった。