

## Technical Data

# DNA先染め染色における MIDORIGreenXtra の製品評価

## 評価製品

## MIDORIGreenXtra (MG09)

## 製品背景と目的

アガロースゲル電気泳動の際に行うDNA染色の方法の一つに先染め染色法がある。先染め染色は、DNA染色色素をあらかじめ含有させたゲルを用いて電気泳動を行い、泳動後、DNA染色工程を必要とせずに泳動結果を観察できるメリットがある、一方で、場合によりバンドが歪む、もしくは、本来、分子量依存的であるべき泳動度に変化が生じるリスクを抱えている。このため、先染め染色に用いる試薬には、検出に有利な ①バンド輝度が高いこと、②バックグラウンドの輝度が低いこと (S/N比が高いこと) の他に、③きれいなバンド形成を阻害しない、および ④泳動度に影響を及ぼさないことが求められている。

今回、新しい染色試薬であるMIDORIGreenXtraの先染め法使用時における、バンド形成への影響とDNA染色能を評価することで、この試薬の性能を評価する。

## 評価方法

MIDORIGreenXtra (MDG-Xtra) と既存のDNA染色試薬；MIDORIGreenAdvance (MDG-Advance)、DuGreen、DuRed、GelGreen、GelRedをメーカー指定量使用し先染め染色を行い、形成バンドの観察、ならびにバンド輝度の定量的評価を行った。

### 実験手順

①以下の条件で先染めゲルを作成した。

- アガロースゲル：2.0% TAE agarose gel (NE-AG02) 12.5ml/ミニゲル1枚
- 核酸染色試薬：メーカー指定量使用

	試薬名	メーカー指定量 (2% agarose 100 mL)
弊社	Midori Green Xtra (NE-MG09)	4 $\mu$ L
	Midori Green Advance (NE-MG03)	4 $\mu$ L
Bridgen	DuRed (D009)	10 $\mu$ L
	DuGreen (D011)	10 $\mu$ L
Cosmo Bio	GelGreen (41005)	10 $\mu$ L
	GelRed (41003)	10 $\mu$ L

② 0.1  $\mu$ g/ $\mu$ L、0.05  $\mu$ g/ $\mu$ L、0.025  $\mu$ g/ $\mu$ L、0.013  $\mu$ g/ $\mu$ L、0.006  $\mu$ g/ $\mu$ L、0.003  $\mu$ g/ $\mu$ L DNAの希釈系列を作成した。

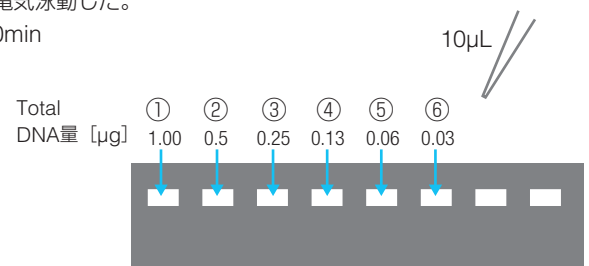
- DNAサンプル：100bp DNA ladder (0.1  $\mu$ g/ $\mu$ L, Fastgene: NE-MWD100)
- 希釈溶媒：10×Loading Dye (TAKARA, 9157) と1×TAEを1：9の割合で混合したもの。

③作成した先染めゲルに各希釈DNAを10  $\mu$ Lアプライし(右図)、以下の条件で電気泳動した。

- 電気泳動：SafeBlue Electrophoresis system (MBE-150Plus)、100V 30min

④泳動後、以下の条件でゲルの画像を取得した。

- 撮影装置：FAS-Digi (Pentax MX-1)
- 撮影条件：Illuminator i) 302 nm, ii) 470 nm, iii) 500 nm  
Camera: Pentax MX-1  
ISO 100, autofocus, f = 4.0



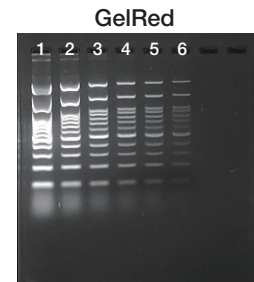
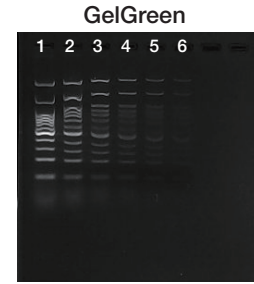
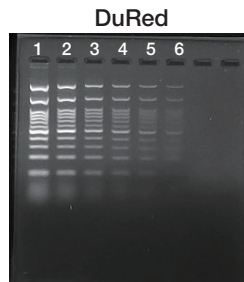
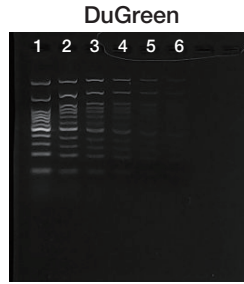
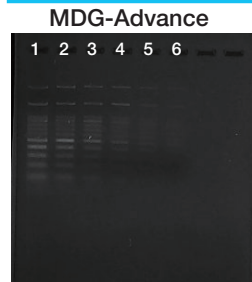
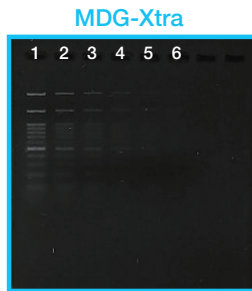
⑤Image Jで画像解析を行い、100 bpバンドに関してバンド輝度およびS/N比を算出した。

## 結果

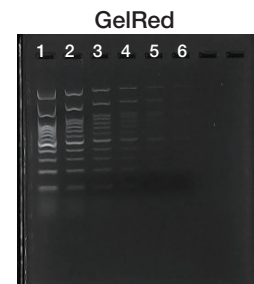
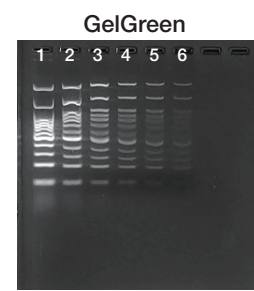
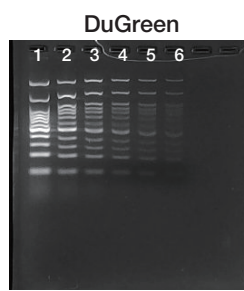
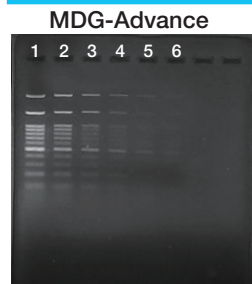
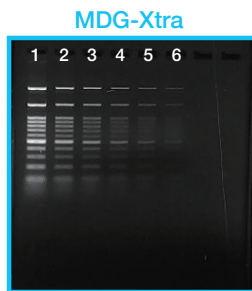
- 泳動度が均一
- 直線的バンド形成

- 泳動度がレーンによって異なる
- バンドがゆがむ

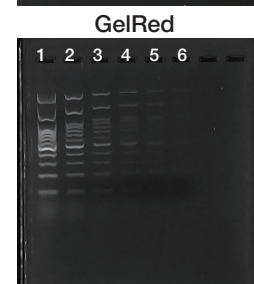
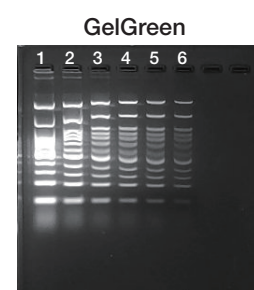
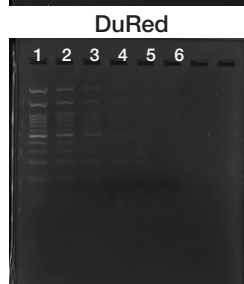
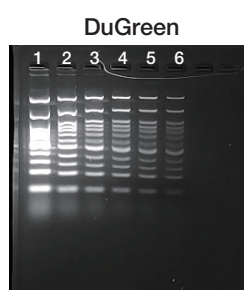
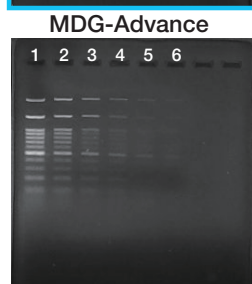
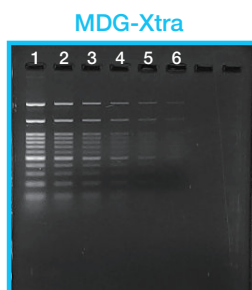
i) 302 nm illumination  
Exposure 3 sec



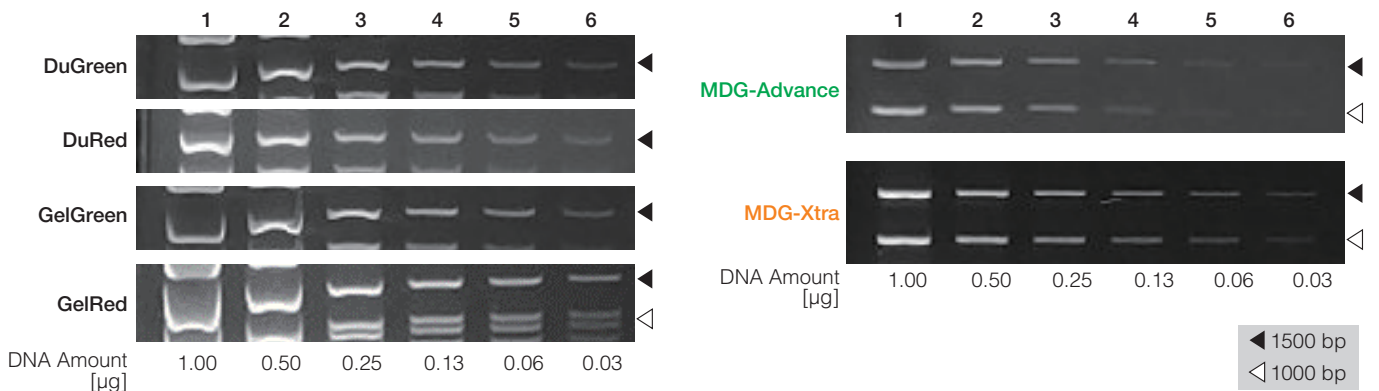
ii) 470 nm illumination  
Exposure 1 sec



iii) 500 nm illumination  
Exposure 1 sec



### 1) バンド形成への影響について



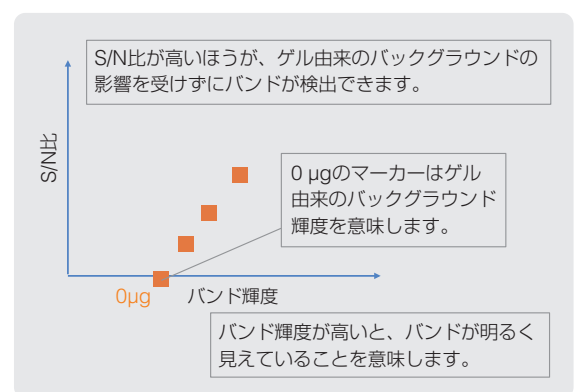
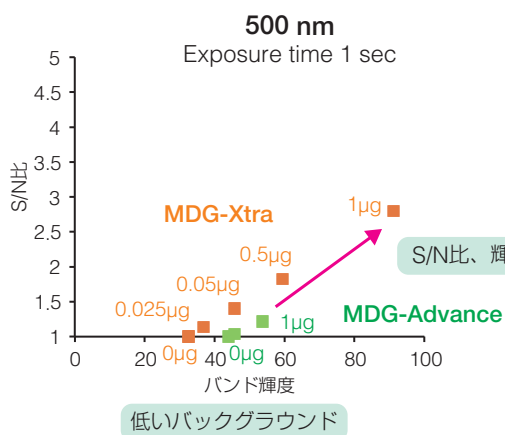
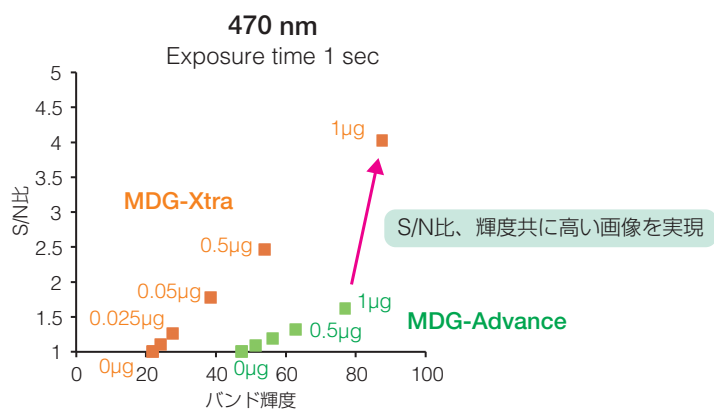
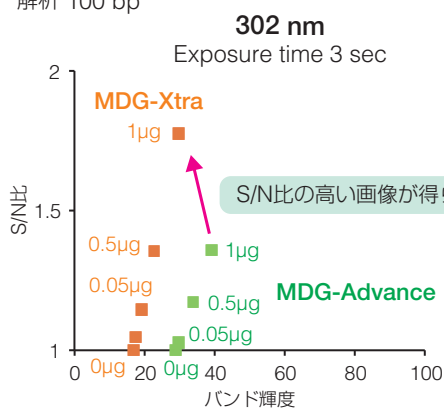
- DNA量依存的に泳動度が変わる。
- DNA量が多いときにバンドがゆがむ。

MDG-Advance、MDG-Xtraでは

- バンドの歪みがほぼない。

### 2) バンド輝度・S/N比について

解析 100 bp



#### まとめ

- Midori<sup>Green</sup> Xtraは、先染め染色を行った場合に起こる泳動度の変化、バンドの歪みが観察されない試薬である。
- Midori<sup>Green</sup>Xtraは、Midori<sup>Green</sup>Advanceよりも低バックグラウンド、高いS/N比を可能にするDNA染色試薬である。

Midori<sup>Green</sup>Xtraは先染め法に理想的な性質を備えている。