

Technical Data

Midori Green XtraのDNA後染め染色法使用時における製品評価

評価製品

FastGene™ Midori Green Xtra (Cat.No.NE-MG10)

目的と評価内容

Midori Green Xtra (MGX) はDNA先染め染色法に優れた染色試薬である。本資料では、DNA後染め染色法における染色試薬としての性能を評価するために、以下の2点について他のDNA染色試薬との比較試験を行った。

- 染色時間依存的なDNA染色度合い (→結果1)
- 励起波長別DNAバンドの見え方の違い (→結果2)



Midori Green Xtra FastGene™

DNA先染め染色法に理想的な性質を備えたDNA染色試薬

→ 先染め時にバンドの歪みが発生いたしません。泳動するDNA量依存的な移動度のズレも見られません。

Blue/Green LED、Blue LED照明下の観察に最適な試薬

→ 低バックグラウンド、高S/N比のバンド像を実現

DNA先染め染色法を用いた製品評価の詳細は、下記のテクニカルノートをご覧ください。

<https://www.n-genetics.com/products/1072/1024/16817.pdf>

実験手順

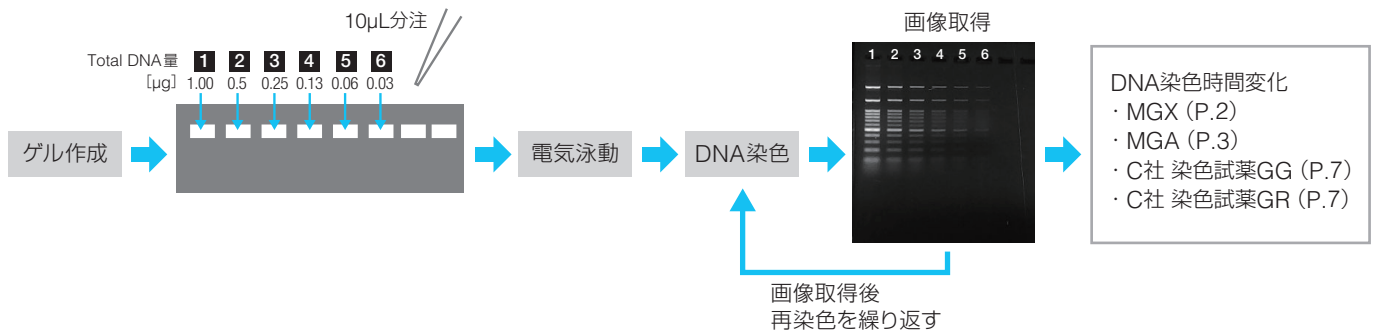
- ① 2% アガロースゲル (12.5 mL/ミニゲル 1 枚) を作成した。
 - 試薬：アガロース (FastGene™, NE-AG02)
 - 溶媒：1×TAE バッファー
- ② DNA の希釈系列 (0.100、0.050、0.025、0.013、0.006 μg/μL) を作成し、2% アガロースゲルに各 10 μL アプライした。
 - DNA サンプル：100bp DNA ladder (0.100 μg/μL, FastGene™, NE-MWD100)
 - 希釈溶媒：10×Loading Dye (TAKARA, 9157) と 1×TAE バッファーを 1：9 の割合で混合したもの。
- ③ 電気泳動は各染色試薬の評価用にそれぞれ独立して行った。
 - 電気泳動装置：SafeBlue Electrophoresis system (Major Science, MBE-150Plus)
 - 電気泳動条件：100 V、35 min
- ④ 以下の条件で DNA 後染め染色を行った。

染色試薬	本実験使用量 in100 mL TAE	メーカー推奨量
Midori Green Xtra (MGX) , FastGene™, NE-MG10	10 μL	10 μL
Midori Green Advance (MGA) , FastGene™, NE-MG04	10 μL	10-25 μL
C社 染色試薬GG	30 μL	30 μL
C社 染色試薬GR	30 μL	30 μL

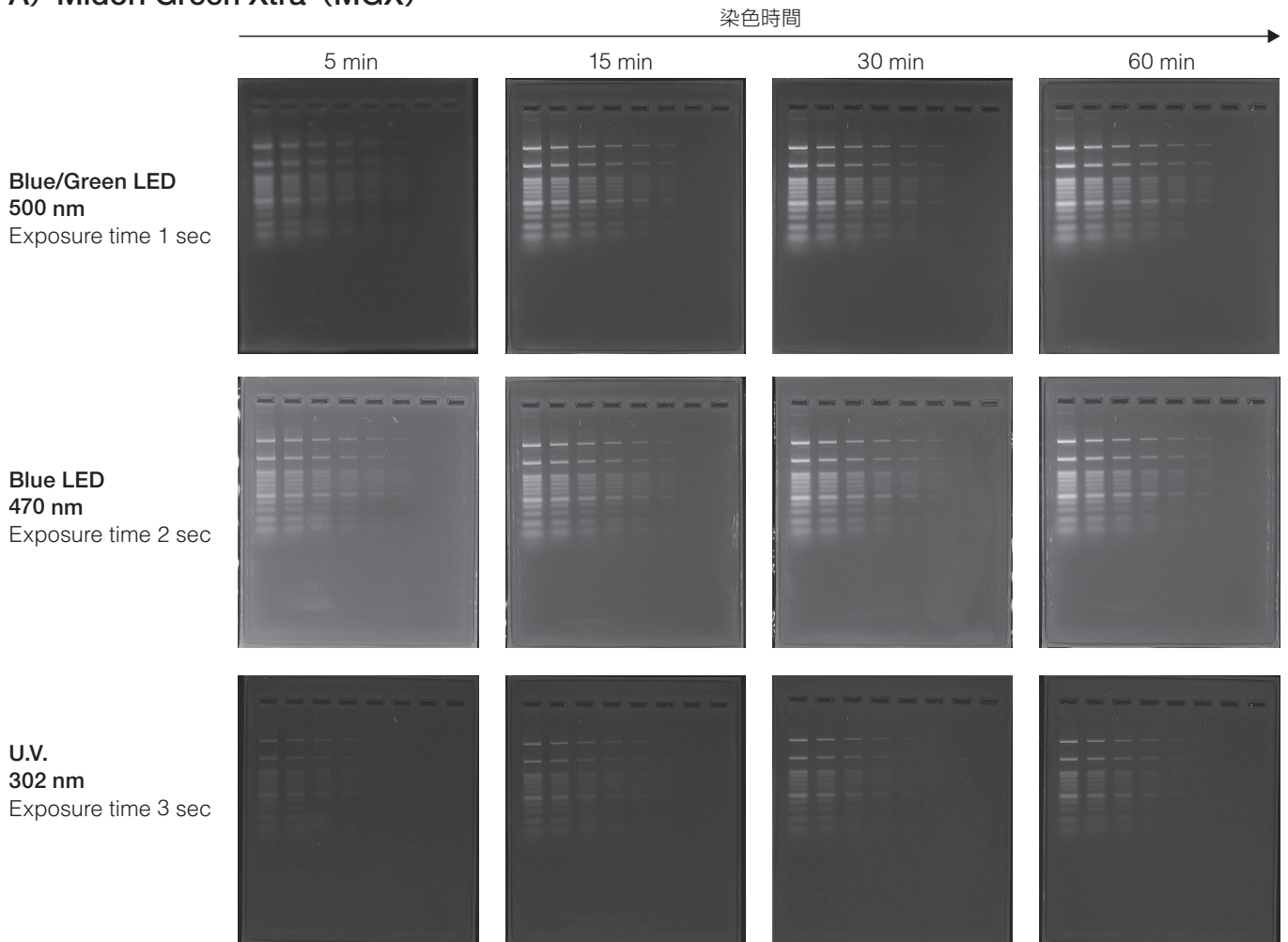
- ⑤ 泳動後、以下の条件でゲルの画像を取得した。
 - 撮影装置：FAS-Digi (Pentax MX-1)
 - 撮影条件：Illuminator
 - i) Blue/Green LED 500 nm
 - ii) Blue LED 470 nm
 - iii) U.V. 302 nm
 - Camera：Pentax MX-1
 - ISO 100、autofocus、f =4.0

結果1：DNA染色時間変化

DNA 染色時間 5, 15, 30, 60 min における DNA バンドの見え方を比較した。



A) Midori Green Xtra (MGX)



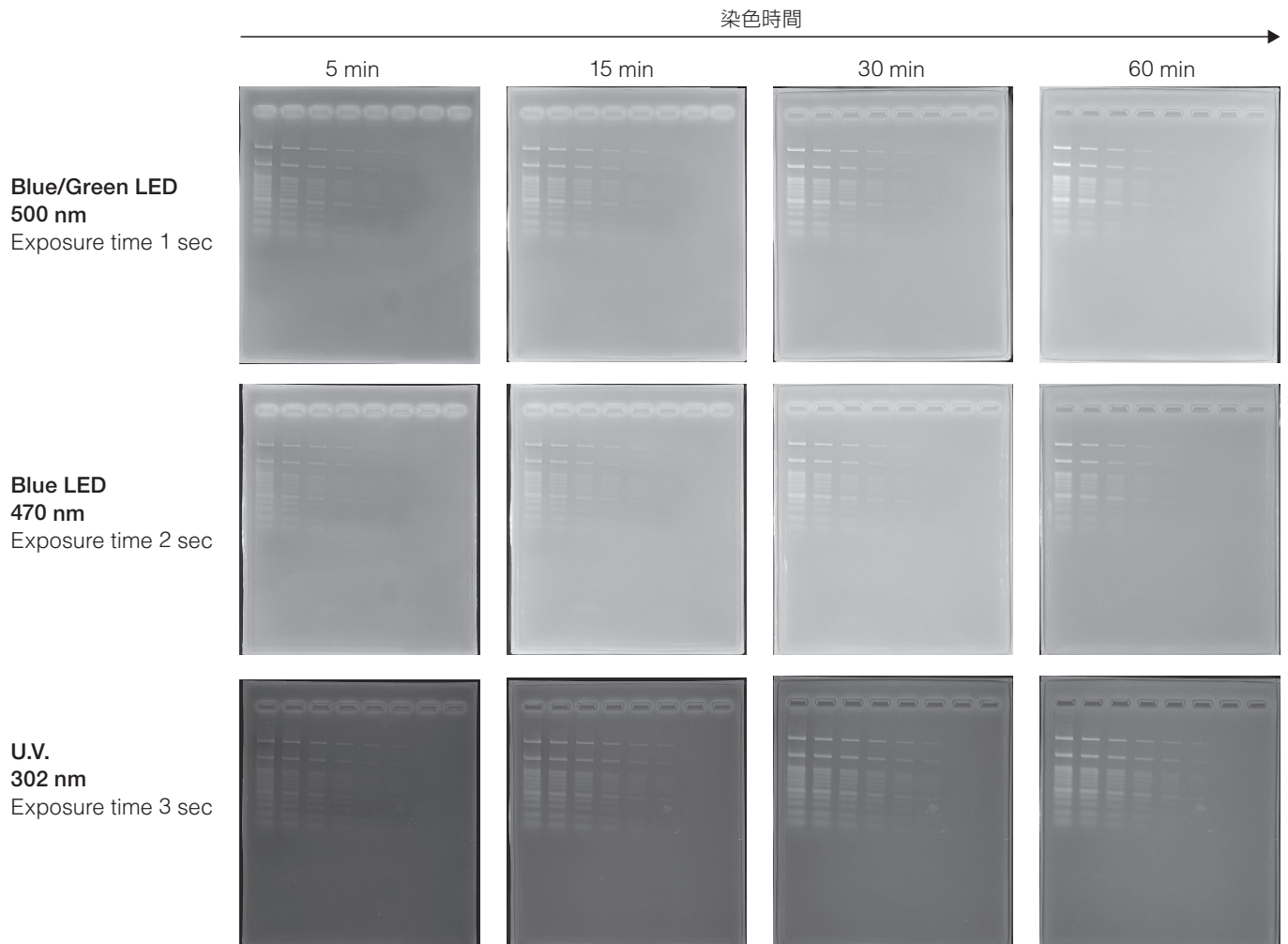
結果

- 〈結果 A1〉 染色時間 5 min から 15 min にかけて、バンド輝度の上昇がみられた。
- 〈結果 A2〉 染色時間 15 min から 30 min にかけて、わずかにバンド輝度が上昇していた。
- 〈結果 A3〉 染色時間 30 min から 60 min にかけては、バンド輝度の変化がほぼみられなかった。
- 〈結果 A4〉 染色時間 5 min から 60 min の間、一貫してバックグラウンドの顕著な上昇は見られなかった。

結論

- DNA 後染め染色を MGX 濃度 10 μ L / 100 mL (メーカー推奨条件) にて行った場合、染色時間 30 分までに MGX による DNA 染色は完了する 〈結果 A1, A2, A3〉。
- MGX は DNA に対する特異性が高く、コントラストの高い画像が得られる 〈結果 A4〉。

B) Midori Green Advance (MGA)



結果

- 〈結果 B1〉 染色時間 5 min から 15 min にかけて、バンド輝度の上昇がみられた。
- 〈結果 B2〉 染色時間 15 min から 30 min にかけて、わずかにバンド輝度が上昇していた。
- 〈結果 B3〉 染色時間 30 min から 60 min にかけて、バンド輝度の変化がほぼみられなかった。
- 〈結果 B4〉 バックグラウンドの影響が強く、染色時間が長い程、その傾向は強くなる。

結論

- DNA 後染め染色を MGA 濃度 10 μ L / 100 mL (メーカー推奨条件) にて行った場合、染色時間 30 分までに MGA による DNA 染色は完了する (結果 B1, B2, B3)。
- MGA は、画像取得の条件によってはバックグラウンドの影響が強く現れるリスクがある (結果 B4)。

C) 他社製品比較を踏まえて

他社染色試薬 GG、GR でも、染色時間 30 min までに DNA との結合はほぼ完了した（本資料 P.6、「補足情報：他社核酸染色試薬の DNA 染色時間変化」参照）。

したがって、MGX、MGA の染色完了時間は、GG、GR とほぼ変わりがなかった。

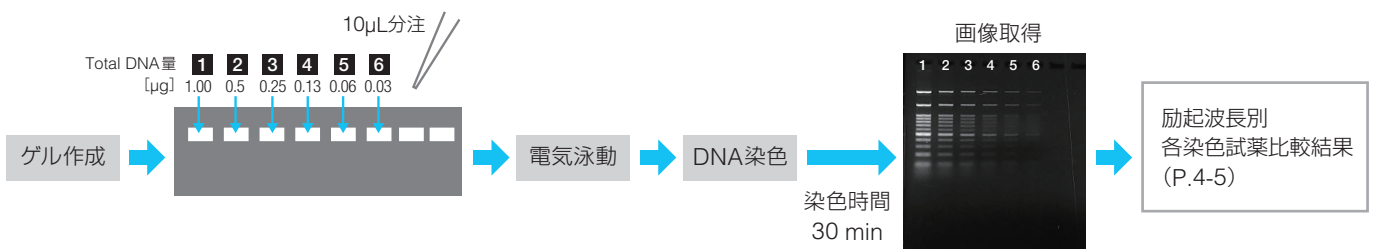
結論

MGX の DNA 後染め染色推奨量は 10 μ L/100 mL であり、他社核酸染色試薬（推奨量 30 μ L/100 mL）と比較して少ない。しかし、いずれの核酸染色試薬においても染色に要する時間に顕著な違いはなく、染色時間 30 分までに DNA との結合はほぼ完了する。

染色試薬	本実験使用量 in 100 mL TAE	本実験染色時間	本実験より見積もられた染色完了時間
Midori Green Xtra	10 μ L	5, 15, 30, 60 min	30 min
Midori Green Advance	10 μ L	5, 15, 30, 60 min	30 min
C 社 染色試薬 GG	30 μ L	5, 15, 30, 60 min	30 min
C 社 染色試薬 GR	30 μ L	5, 15, 30, 60 min	30 min

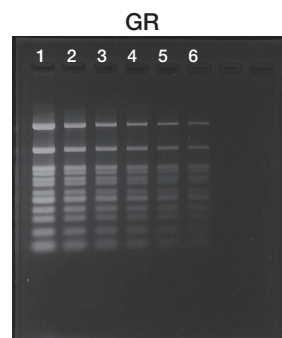
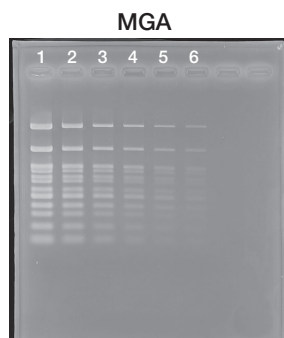
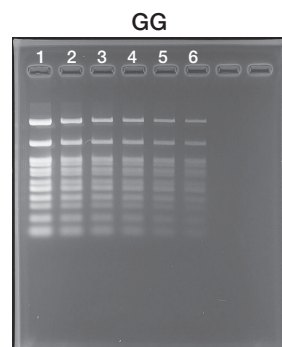
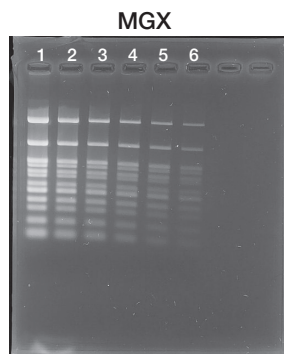
結果2：励起波長別各染色試薬比較結果

DNA 染色時間 30 min における各核酸染色試薬で染めた DNA バンドの見え方を比較した。



A) Blue/Green LED (500 nm) Exposure 1 sec, ISO 100

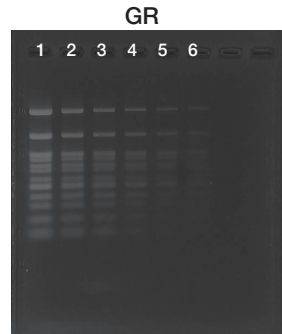
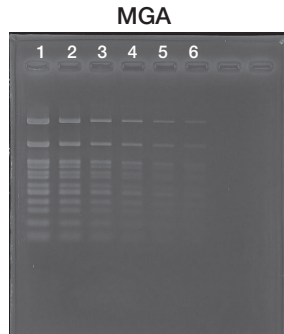
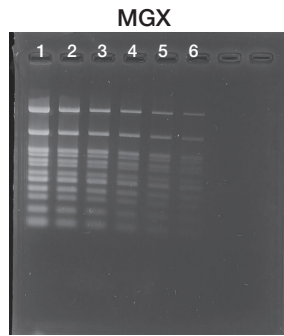
MGXはバックグラウンドが低く、バンドが明るい



他社核酸染色試薬と比較しても、MGXのバンドは明るい

B) Blue LED (470 nm) Exposure 2 sec, ISO 100

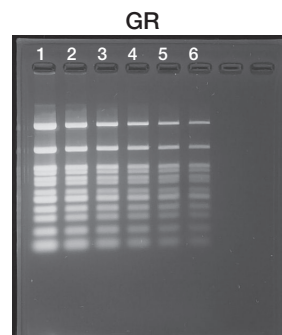
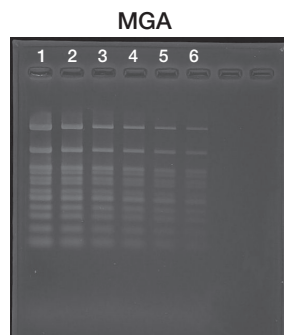
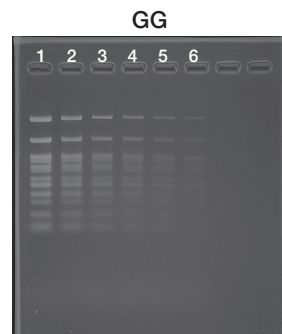
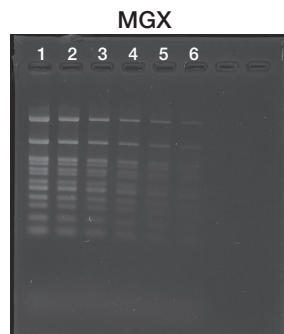
MGXはバックグラウンドが
低く、バンドが明るい



他社核酸染色試薬と比較
しても、MGXのバンドは
明るい

C) U.V. (302 nm) Exposure 3 sec, ISO 100

MGXは、U.V.では
バンドが暗い


結論

MGXはBlue LED (470 nm) ならびにBlue/Green LED (500 nm) で鮮明なDNAバンド像を作る。

後染め法を用いたときのゲル撮影装置イルミネーター（光源波長）に対する推奨／適合表

	後染め法		
	Blue/Green LED (500 nm)	Blue LED (470 nm)	U.V. (302 nm)
Midori Green Xtra	◎	◎	△(暗い)
Midori Green Advance	○(バックが高い)	○	○
C社 染色試薬 GG	◎	◎	○
C社 染色試薬 GR	◎	△(暗い)	◎

総括


Midori Green Xtra

DNA先染め染色法に理想的な性質を備えたDNA染色試薬

→ 先染め時にバンドの歪みが発生いたしません。泳動するDNA量依存的な移動度のズレも見られません。

Blue/Green LED、Blue LED照明下の観察に最適な試薬

→ 低バックグラウンド、高S/N比のバンド像を実現

DNA先染め染色法を用いた製品評価の詳細は、下記のテクニカルノートをご覧ください。

<https://www.n-genetics.com/products/1072/1024/16817.pdf>
DNA先染め染色法において高性能

先染め染色法を用いたときのゲル撮影装置イルミネーター（光源波長）に対する推奨／適合表

	先染め法		
	Blue/Green LED (500 nm)	Blue LED (470 nm)	U.V. (302 nm)
Midori Green Xtra	◎	◎	△(暗い)
Midori Green Advance	○	○	○
C社 染色試薬 GG	× (バンド歪む)		
C社 染色試薬 GR	× (バンド歪む)		

DNA後染め染色法においても高性能
本資料における結果

1. 染色完了時間

染色試薬	本実験使用量 in 100 mL TAE (メーカー推奨量)	メーカー推奨時間	本実験より見積もられた 染色完了時間
Midori Green Xtra	10 µL (10 µL)	10-30 min	30 min
Midori Green Advance	10 µL (10-25 µL)	5-60 min	30 min
C社 染色試薬 GG	30 µL (30 µL)	-30 min	30 min
C社 染色試薬 GR	30 µL (30 µL)	-30 min	30 min

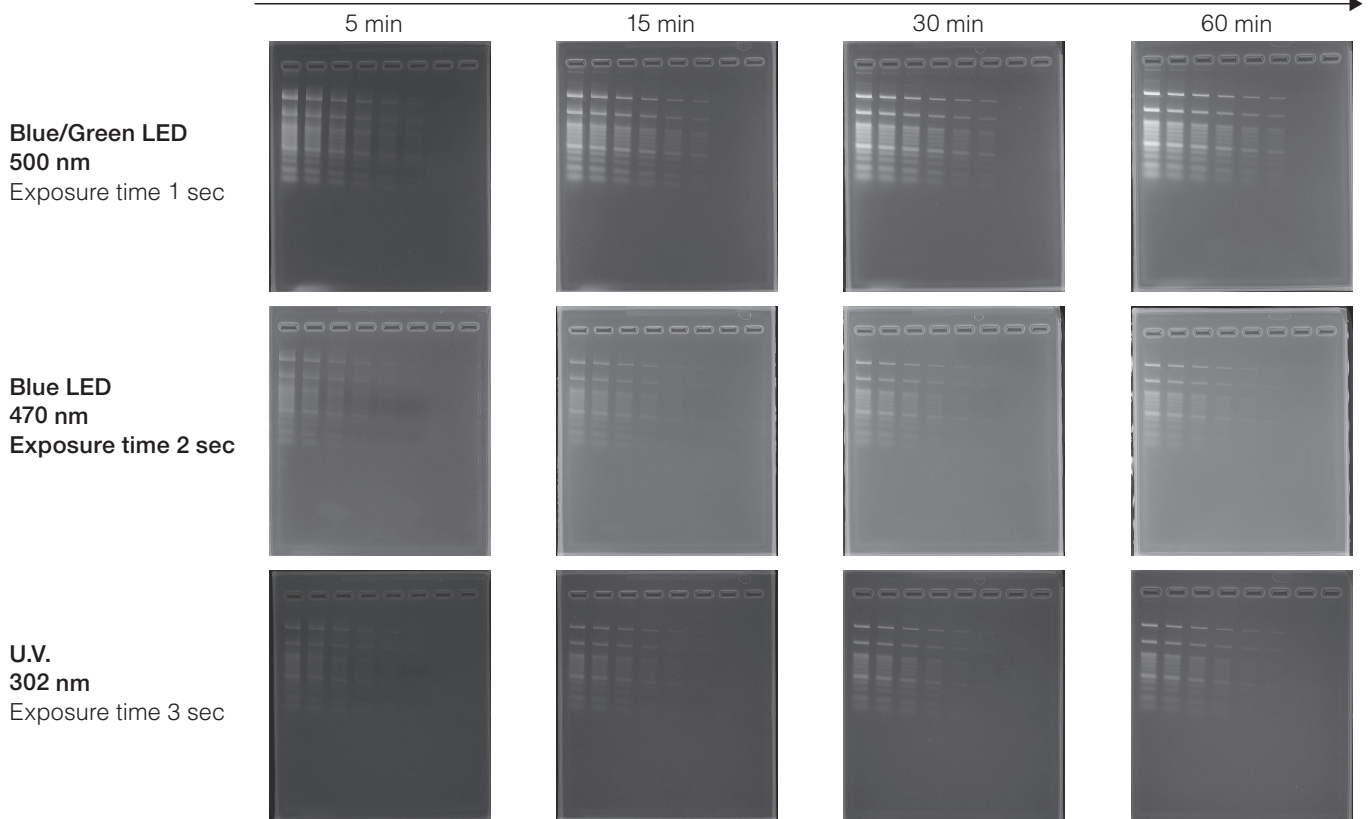
2. DNA 後染め法を用いたときのゲル撮影装置イルミネーター（光源波長）に対する推奨／適合表

	後染め法		
	Blue/Green LED (500 nm)	Blue LED (470 nm)	U.V. (302 nm)
Midori Green Xtra	◎	◎	△(暗い)
Midori Green Advance	○(バックが高い)	○	○
C社 染色試薬 GG	◎	◎	○
C社 染色試薬 GR	◎	△(暗い)	◎

補足情報：他社核酸染色試薬のDNA染色時間変化

S1) C社 染色試薬GG

染色時間



S2) C社 染色試薬GR

染色時間

