

Technical Data

先染め染色法における Midori Green シリーズとエチジウムブロマイドの比較

評価製品

Midori Green Advance (FastGene™, Cat.No. NE-MG04)
 Midori Green Xtra (FastGene™, Cat.No. NE-MG10)

目的

核酸染色試薬である Midori Green Advance、Midori Green Xtra、エチジウムブロマイドにて、それぞれ先染め染色を行い、Blue/Green LEDにて、DNAの検出感度の確認を行う。

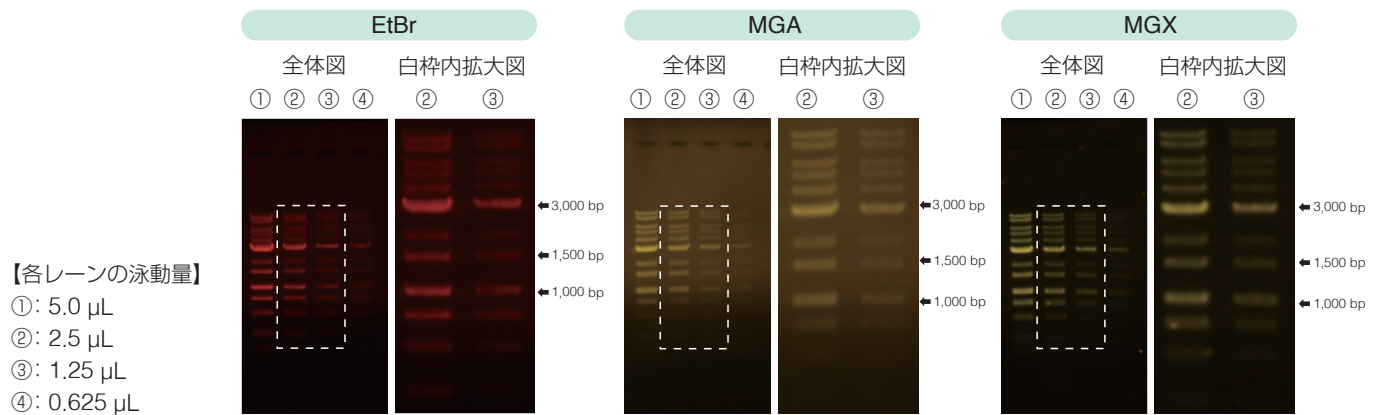
概要

Midori Green Advance (以下MGA) と Midori Green Xtra (以下MGX) は、エチジウムブロマイド (以下、EtBr) に代わる安全な核酸染色試薬である。

EtBrの代替試薬では、EtBrとのDNAの見え方 (検出感度) の違いが重要であるが、MGAとMGXは、先染め染色ゲルにおけるEtBrとの検出感度の比較検証がされていなかった。

本資料では、MGAとMGXとEtBr各試薬の標準使用量で作成した先染めゲルでDNAラダーを分離した後、Blue/Green LEDでのDNA検出感度の比較検証を行った。

実験結果

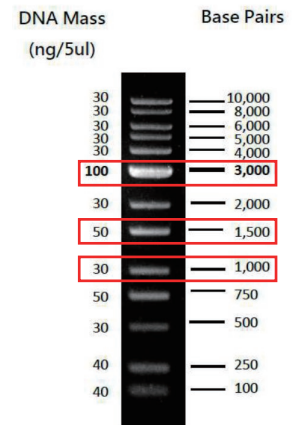


各濃度のDNAの見え方

Lane	バンド位置 (DNA量)	EtBr	MGA	MGX
②	3,000 bp (約25 ng/band)	○	○	○
②	1,500 bp (約12.5 ng/band)	○	○	○
②	1,000 bp (約7.5 ng/band)	○	○	○
③	1,000 bp (約3.75 ng/band)	○	○	○

全ての核酸染色試薬において、25, 12.5, 7.5, 3.75 ngのDNAを検出できた。

使用したDNAラダーの分子量・DNA量



結論

MGA・MGXは、EtBrに代わる先染め染色試薬として使用できることが示された。

実験方法

● 試薬類

- Midori Green Advance (FastGene™, Cat.No. NE-MG04)
- Midori Green Xtra (FastGene™, Cat.No. NE-MG10)
- 10 mg/mL Ethidium Bromide (ナカライテスク, Cat.No. 14631-94)
- FastGene™ DNA ラダー (FastGene™, Cat.No. NE-MWD1P)
- FastGene™ Agarose (FastGene™, Cat.No. NE-AG02)
- 1 x TAE buffer (ナカライテスク, Cat.No. 35430-61)
- Mupid-exU (タカラバイオ, Cat.No. EXU-1)

● 先染めアガロースゲルの作製

- 以下の試薬をフラスコに混合する。
 - ・ 0.4 g FastGene™ Agarose
 - ・ 40 mL 1x TAE buffer
- 電子レンジでアガロースを溶解する。
- 温度が60℃くらいまで冷めたら、以下の条件で各試薬を加える。
 - ① EtBr : 2 μ L (終濃度: 0.5 μ g/mL)
 - ② MGA・MGX : 1.6 μ L (終濃度: 4 μ L/100 mLゲル溶液)
- ゲルメーカーにゲルを流し込み、固める。

● DNA ラダーの電気泳動

- 1x TAE bufferをMupid-exUに(400 mL+ α) 加えて、ゲルをセットする。
- DNA ラダーを各ウェルへアプライする。(5.0 μ L、2.5 μ L、1.25 μ L、0.625 μ L/Lane)
- 100V、20分の条件で電気泳動を行う。

〈撮影とDNAの観察〉

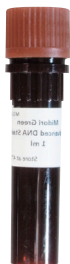
- 泳動後のアガロースゲルをゲルトレーに並べ、FAS-Digi PRO (日本ジェネティクス株式会社, Cat.No. GP-07LED) にて撮影する。
- 撮影条件はマニュアルモード (F値: 5.6, 露光時間: 0.5秒, ISO: 100) に固定して行った。
- 撮影した画像の3,000 bp, 1,500 bp, 1,000 bpのバンドを確認し、各試薬での比較を行った。

製品紹介

Midori Green Advance / Midori Green Xtra

〈Midori Green シリーズの特長〉

- EtBrより低い変異原性で非発癌性物質の安心・安全な核酸染色試薬です。
- Blue/Green LED (励起光 500 nm)に適した試薬のため、脱UVが可能です。
- 先染め/後染め、両方の染色法に対応しています。EtBrと使用感を変わらずにご利用いただけます。



UVでも使いたい方には…



Midori Green Advance

(FastGene™, Cat.No. NE-MG04)

Blue/Green LED だけではなく、
UVでも同様に検出可能です。



Blue/Green LEDをご使用の方には…



Midori Green Xtra

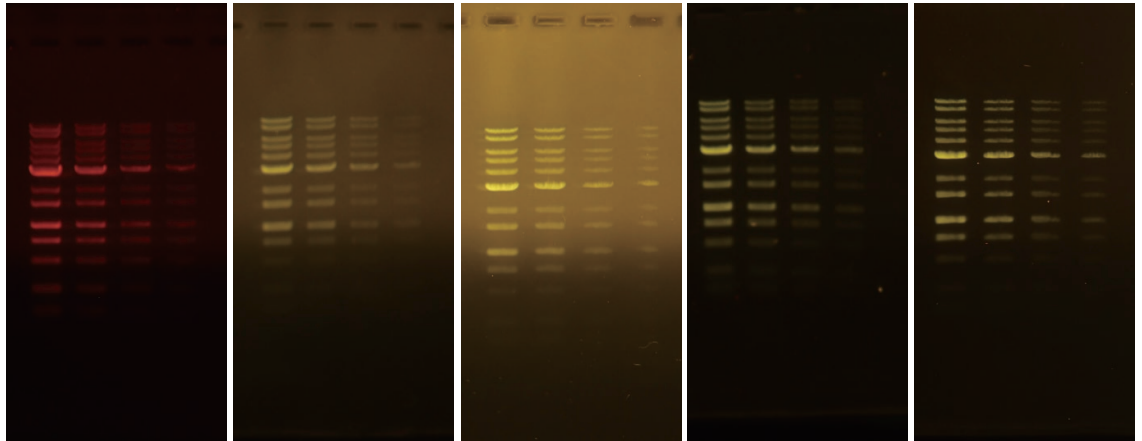
(FastGene™, Cat.No. NE-MG10)

よりBlue/Green LEDに最適化されており、
低バックグラウンド・高S/N比での検出可能です。

補足データ：核酸染色試薬の添加量と撮影機器の変更時による泳動像の見え方の違い

① FAS-Digi PROでの撮影画像

試薬名 (添加量)	EtBr (0.5 µg/mL)				MGA (4 µL/100 mLゲル)				MGA (8 µL/100 mLゲル)				MGX (4 µL/100 mLゲル)				MGX (6 µL/100 mLゲル)			
	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④

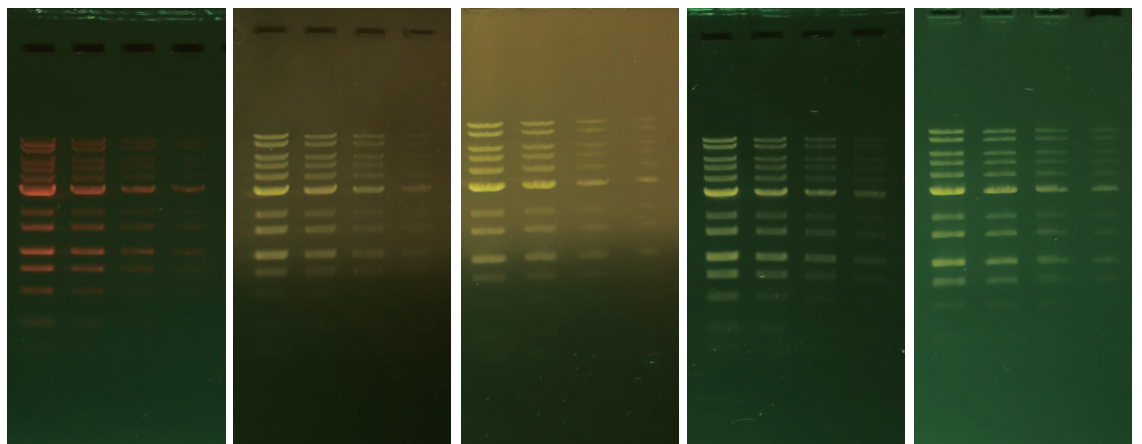


【各レーンの泳動量】

- ①: 5.0 µL
- ②: 2.5 µL
- ③: 1.25 µL
- ④: 0.625 µL

② FAS-Digi Compact (日本ジェネティクス株式会社, Cat.No. GP-08LED)での撮影画像

試薬名 (添加量)	EtBr (0.5 µg/mL)				MGA (4 µL/100 mLゲル)				MGA (8 µL/100 mLゲル)				MGX (4 µL/100 mLゲル)				MGX (6 µL/100 mLゲル)			
	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④	①	②	③	④



【各レーンの泳動量】

- ①: 5.0 µL
- ②: 2.5 µL
- ③: 1.25 µL
- ④: 0.625 µL