

Dr. ジーン 9

アガロースゲル電気泳動セット

補足説明書

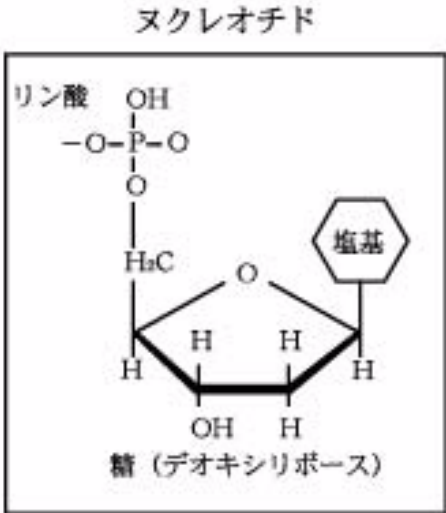
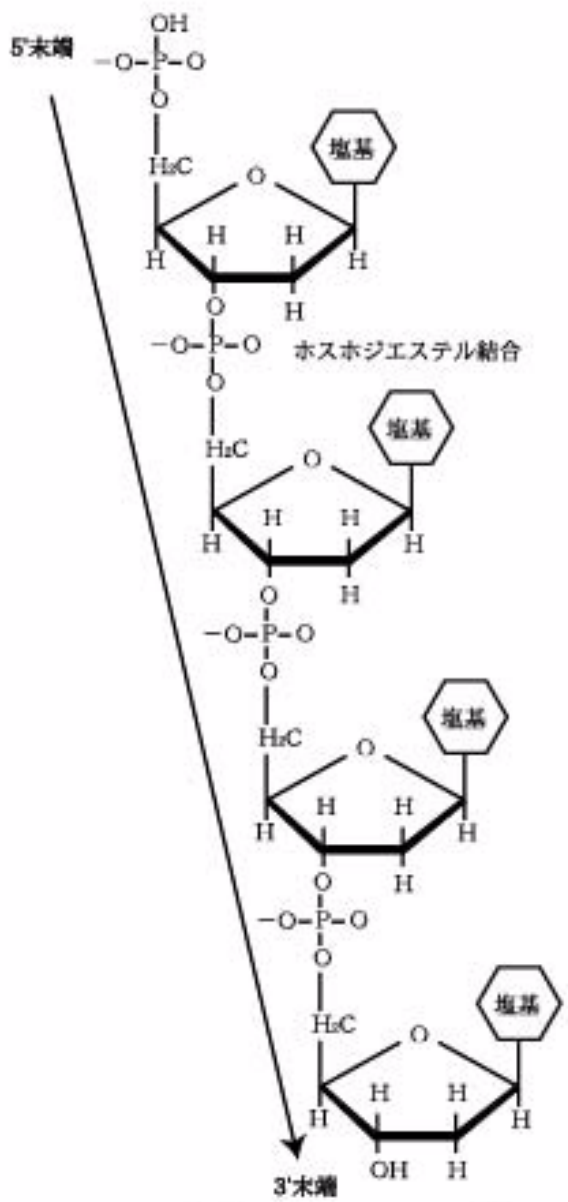
Code No. 315-08481 1 Set (キット構成 : 6 班分)

- DNA の構造
- アガロースゲル電気泳動について
- キット構成品の試薬組成
- サブマリン電気泳動装置
- Dr. ジーン 7 電気泳動実験の試薬必要量 (6 班分)
- Dr. ジーン 8 電気泳動実験の試薬必要量 (6 班分)
- 用語説明
- 関連製品リスト

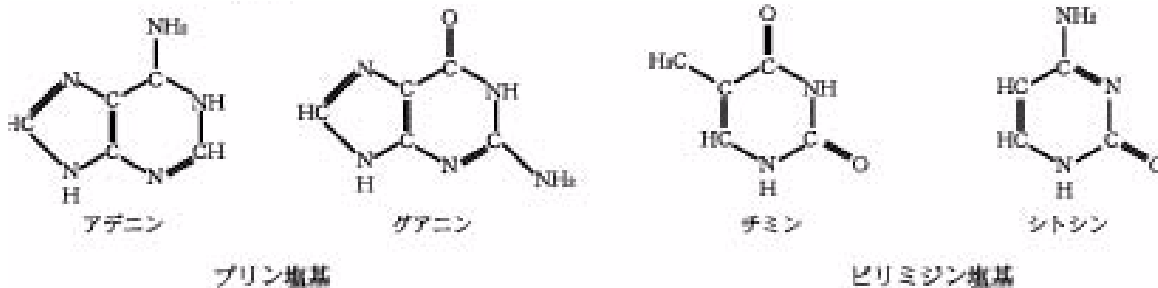
株式会社ニッポンジーン

DNA の構造

DNA (デオキシリボ核酸) は糖 (デオキシリボース)、リン酸、塩基からなるヌクレオチドがつながってできた長い鎖状の分子です。これはデオキシリボースの 3' の炭素について水酸基 (OH) と 5' の炭素についてリン酸のホスホジエステル結合により、鎖状に長く繋がっています。リン酸の方を 5' 側、水酸基の方を 3' 側と呼んでおり、DNA が複製される際には必ず 5' 側から 3' 側の方向で行われます。



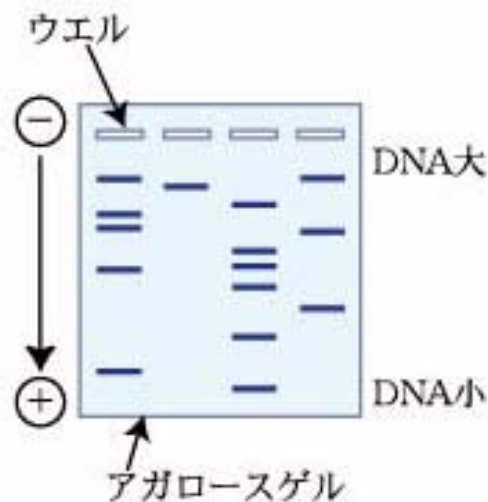
DNA を構成する塩基には A (アデニン)、G (グアニン)、T (チミン)、C (シトシン) の 4 種類あり、A と G がプリン塩基、T と C がピリミジン塩基という構造をしており、プリンとピリミジン塩基間の A と T、G と C が水素結合によって相補的塩基対をつくります。



A と T は二つの水素結合、C と G は三つの水素結合で塩基対を形成しており、これらの塩基によって相補的に結合した二本鎖の DNA は二重らせんと呼ばれる特徴的な構造をとっています。

アガロースゲル電気泳動について

DNA は自身の持つリン酸の影響で負に荷電しているため、アガロースゲルに DNA サンプルをのせて電圧をかけると一極から+極に移動します。DNA がアガロースゲルの中を移動する際に、アガロースゲルの網目構造がふるいの役目を果たし、分子量の小さいものほど速く、大きいものほど遅く移動します。この移動度の差によって異なる大きさの DNA 断片をアガロースゲル中で分離することができます。電気泳動後は CLEAR STAIN Blue などの色素や臭化エチジウム (EtBr) などの蛍光色素でゲルを染色して DNA を検出します。



「Dr. ジーン 7 植物多型解析 PCR キット」を用いた実験では 1.5% の濃度のアガロースゲルを使用します。この濃度のアガロースゲルは約 200 bp (base pairs : 塩基対) から 4,000 bp の間にある DNA を分離するのに適しています。

「Dr. ジーン 8 DNA 鑑定キット」を用いた実験では 1% の濃度のアガロースゲルを使用します。この濃度のアガロースゲルは約 400 bp (base pairs : 塩基対) から 8,000 bp の間にある DNA を分離するのに適しています。

短い DNA (数百 bp 程度) を分離したいときには、アガロース濃度を濃くします。アガロース濃度が濃くなるとアガロース中の網目構造の密度が高くなり、大きな DNA はあまり移動できなくなり、小さな DNA がよりきれいに分離できるようになります。逆に大きな DNA を分離するときにはもっと薄い濃度のアガロースを使用します。どの濃度のアガロースを使用するかは実験の目的によって変える必要があります。また、目的別に専用のアガロースが市販されています。

キット構成品の試薬組成

本キットに、毒物または劇物に該当する物質は含まれておりません。

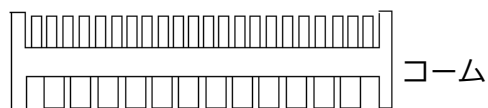
危険有害性に関する最新の情報は、安全データシート (Safety Data Sheet) を参照してください

構成品名	製品名称と組成	備考
アガロース	<u>Agarose S</u> 粉末状の実験用アガロース	通常取り扱いでは、危険性は低い。
電気泳動バッファー	<u>50×TAE</u> 2 mol/l Tris-acetate, 50 mmol/l EDTA	通常取り扱いでは、危険性は低い。
マーカーDNA	<u>Gene Ladder Wide 1</u> 16本のDNA断片(0.1-20 kbp), 10 mmol/l Tris-HCl(pH 8.0), 10 mmol/l EDTA, 20 mmol/l NaCl, 0.004% Bromophenol blue, 0.004% Xylene Cyanol FF, 10%(v/v) Glycerol	<u>グリセリン(Glycerol) について記載</u> GHS 分類：眼に対する重篤な損傷・眼刺激性、区分 2B 注意喚起語：警告 危険有害性情報：眼刺激を起こす
ローディングバッファー	<u>6×Loading Buffer Orange G</u> 0.3% Orange G, 15% Ficoll® PM400, 10 mmol/l Tris HCl(pH7.5), 50 mmol/l EDTA	通常取り扱いでは、危険性は低い。
核酸染色用試薬	<u>CLEAR STAIN Blue</u> 10倍濃度の青色色素溶液	通常取り扱いでは、危険性は低い。

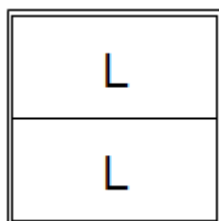
サブマリン電気泳動装置

MARINE23ST (富士フイルム和光純薬株式会社 Code No. 298-35271)

サブマリン電気泳動装置 (付属品: ゲル作製台、ゲルトレイ、コーム)



ゲル作製台

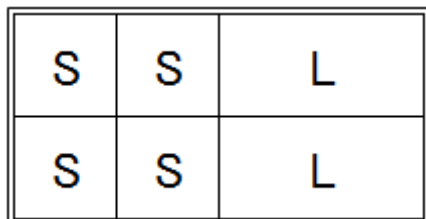


- * 付属のゲル作製台に、Lサイズ用ゲルトレイを2個セットできます。
- * 100mLの1×TAEにアガロースを溶かしたゲル溶解液を30~50mLずつ流し入れるとLサイズのアガロースゲルを2枚作製できます。

Mupid-2plus (株式会社ミューピッド)

サブマリン電気泳動装置 (付属品: ゲルメーカースタンド-L、ゲルトレイ、コーム)

ゲルメーカースタンド-L (ゲル作製台)



- * 付属のゲルメーカースタンド-Lに、Lサイズ用トレイを2個と、Sサイズ用トレイを4個セットできます。
- * 200mLの1×TAEにアガロースを溶かしたゲル溶解液を、Lサイズ用に30~50mLずつ、Sサイズ用に15~25mLずつ流し入れると、Lサイズのアガロースゲル2枚とSサイズのアガロースゲル4枚が作製できます。

Dr. ジーン 7 電気泳動実験の試薬必要量 (6 班分)

Dr. ジーン 7 植物多型解析 PCR キット (Code No. 311-08461)

Dr. ジーン 7 では、植物サンプルの DNA の一部を PCR 法で増幅し、増幅した DNA 断片のサイズをアガロースゲル電気泳動で確認します。

1 班あたりアガロースゲルの 6 レーンを使用

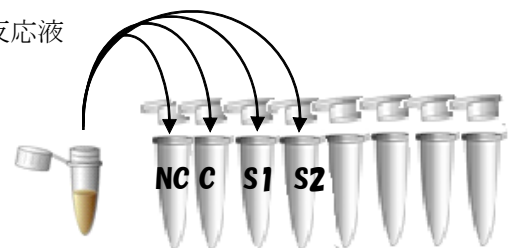
Dr. ジーン 7 の PCR 反応後の 8 連チューブ

NC : ネガティブコントロールとして、DNA の代わりに水を入れた反応液

C : コントロール DNA (ホウレンソウ DNA) を入れた反応液

S1 : 植物サンプル抽出 DNA を入れた反応液

S2 : 植物サンプル抽出 DNA を入れた反応液



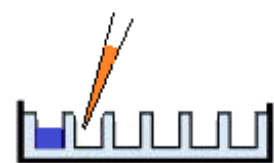
反応液 $50 \mu\text{l}$ にローディングバッファー $5 \mu\text{l}$ を混合 **ローディングバッファー 8 連チューブ**

マーカー DNA $5 \mu\text{l}$ をアガロースゲルのウェルにアプライ

M : マーカー DNA (Gene Ladder Wide 1)

PCR 反応液を $5 \mu\text{l}$ ずつアガロースゲルのウェルにアプライ

空 : 6 番目のウェルは予備のため空けておく

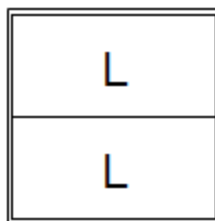


M N C S1 S2 空
1 班あたり 6 レーン

<Dr. ジーン 7 で 6 班分を同時に電気泳動する場合に使用する試薬の最低必要量>

6 班あたり L サイズの 1.5% アガロースゲル (12 ウェル) を 3 枚電気泳動

- ・電気泳動装置 (Wako) 3 台
- ・ゲル作製台 2 個*
- ・L サイズ用ゲルトレイ 3 個
- ・12 ウェル用コーム 3 本



* 付属のゲル作製台に、L サイズ用トレイを 2 個セットできます。

◆ 50×TAE 100mL を 50 倍に希釈して、1×TAE を 5L 調製

以下の通り用意した場合、6 班あたり必ず使用する 1×TAE の量は 2.2L です。

◆ L サイズの 1.5%アガロースゲルを 4 枚 (3 枚+予備 1 枚) 用意

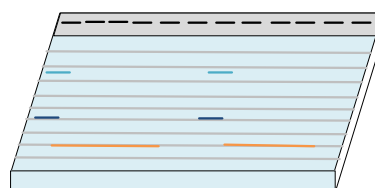
アガロース (Agarose S)	3g
1×TAE	200mL
1.5%溶解液	30~50mL×4 枚

◆ サブマリン電気泳動装置を 3 台用意

1×TAE	850mL
泳動槽に注ぐ	230~280mL×3 台

◆ アプライして電気泳動 (1 班あたり 6 レーン、2 班で 1 枚の L サイズゲルを使用)

マーカーDNA	30 μ l (5 μ l×6 班)
ローディングバッファー	120 μ l (20 μ l×6 班)
1.5%アガロースゲル	3 枚 (1/2 枚×6 班)
泳動槽に蓋をし、100V で 30~40 分間ほど泳動	



1 班あたり 6 レーン

◆ 染色専用容器 (タッパー) を 3 個用意

核酸染色用試薬 (10 倍濃度)	120mL (20mL×6 班)
1×TAE	1,080mL (180mL×6 班)
染色液	200mL×3 + 予備 (200mL×6 班)

Dr. ジーン 8 電気泳動実験の試薬必要量 (6 班分)

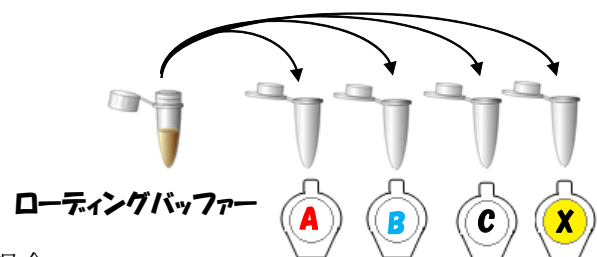
Dr. ジーン 8 DNA 鑑定キット (Code No. 318-08471)

Dr. ジーン 8 では、3 種類の異なるプラスミド DNA 「A」「B」「C」と、この 3 種類のうちのどれかと同じ配列を持つプラスミド DNA 「X」を用いて模擬 DNA 鑑定を行います。実験では、プラスミド DNA を制限酵素で切断し、生じた DNA 断片を電気泳動で分離します。次に、分離した DNA 断片を比較し、プラスミド DNA 「X」が「A」「B」「C」のどれにあたるか鑑定します。

1 班あたりアガロースゲルの 12 レーンを使用 (1 班あたり 2 テスト実施)

Dr. ジーン 8 の制限酵素反応後の 8 本のチューブ (4 本×2 テスト)

- A : 遺伝子「A」反応液
- B : 遺伝子「B」反応液
- C : 遺伝子「C」反応液
- X : 遺伝子「X」反応液



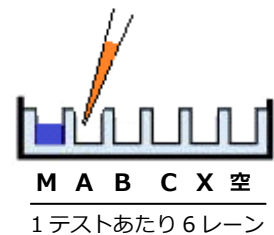
反応液 20 μ l にローディングバッファー 5 μ l を混合

マーカー DNA 5 μ l をアガロースゲルのウェルにアプライ

- M : マーカー DNA (Gene Ladder Wide 1)

酵素反応液を 5 μ l ずつアガロースゲルのウェルにアプライ

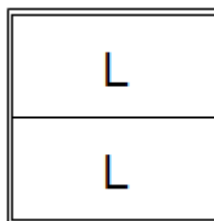
空 : 6 番目のウェルは予備のため空けておく



<Dr. ジーン 8 で 6 班分を同時に電気泳動する場合に使用する試薬の最低必要量>

6 班あたり L サイズの 1% アガロースゲル (12 ウェル) を 6 枚電気泳動

- ・ 電気泳動装置 (Wako) 6 台
- ・ ゲル作製台 3 個*
- ・ L サイズ用ゲルトレイ 6 個
- ・ 12 ウェル用コーム 6 本



* 付属のゲル作製台に、L サイズ用トレイを 2 個セットできます。

◆ 50×TAE 100mL を 50 倍に希釈して、1×TAE を 5L 調製

以下の通り用意した場合、6 班あたり必ず使用する 1×TAE の量は 3.1L です。

◆ L サイズの 1%アガロースゲルを 6 枚用意

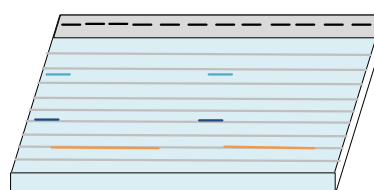
アガロース (Agarose S)	3g
1×TAE	300mL
1.5%溶解液	30~50mL×6 枚

◆ サブマリン電気泳動装置を 6 台用意

1×TAE	1,700mL
泳動槽に注ぐ	230~280mL×3 台

◆ アプライして電気泳動 (1 班あたり 1 枚の L サイズゲル使用 : 2 テスト分の 12 レーン)

マーカーDNA	60 μl (10 μl×6 班)
ローディングバッファー	240 μl (40 μl×6 班)
1%アガロースゲル	6 枚 (1 枚×6 班)
泳動槽に蓋をし、100V で 30~40 分間ほど泳動	



1 テストあたり 6 レーン

◆ 染色専用容器 (タッパー) を 6 個用意

核酸染色用試薬 (10 倍濃度)	120mL (20mL×6 班)
1×TAE	1,080mL (180mL×6 班)
染色液	200mL×6 個 (200mL×6 班)

用語説明

アガロース	アガロースは多糖類の一種で、寒天の主要成分です。
50×TAE	使用条件の 50 倍濃度になっているトリス酢酸緩衝液です。化学や生物の実験ではいろいろな緩衝液が利用されています。
マーカーDNA	サイズが分かっている DNA 断片を電気泳動することで、その DNA 断片を目じるしに同時に電気泳動した DNA サンプルの大きさを推測することができます。このような DNA 断片のことをマーカー (Marker : 標識、目印) と呼びます。また、異なるサイズの DNA 断片からなるマーカーを電気泳動すると、はしご状のバンドパターンになるため、ラダー (Ladder : 梯子) と呼ばれることもあります。
ローディングバッファ	アガロースゲルの穴の中に入れた DNA サンプルが浮き上がらないように、ローディングバッファには、比重を増やすための物質 (フィコールやグリセリン) が入っています。また、電気泳動の進行を観察できる色素 (Orange G やプロモフェノールブルー、キシレンなど) も含まれています。
核酸染色用試薬	キット構成品の CLEAR STAIN Blue は、10 倍濃度の青色色素溶液で、アガロースゲル中の DNA を青色に染めるため、目視で DNA を確認することができます。臭化エチジウム (EtBr) のような変異原性がないため安全です。
臭化エチジウム (EtBr)	エチジウムブロマイド、エチプロとも呼ばれ、紫外線を当てると蛍光を発します。EtBr は、DNA に結合して強く蛍光を発するため、核酸を検出するための核酸染色用試薬として良く利用されています。ただし、DNA に結合する性質から、変異原性があると考えられており、取り扱いには注意が必要です。
サブマリン電気泳動	電気泳動バッファ (緩衝液) を入れた泳動槽の中に、アガロースゲルを水平に沈めた状態で行う電気泳動を、潜水艦 (submarine) に例えてサブマリン電気泳動と呼ばれます。
コーム	櫛型 (comb) をしており、アガロースゲルに試料を入れるための穴 (ウェル : well) を形成します。
レーン	ウェルごとの泳路 (lane) で、レーンの幅はコームの櫛歯の横幅で変えられます。
アプライ	試料を目的の場所に注入する操作をアプライ (apply) と呼んでいます。
ピペッティング	マイクロピペットで溶液を吸ったり出したりして溶液を混和する操作のことです。

Dr.ジーン 9 関連製品リスト

Dr.ジーン 9 キット構成商品は、単品でもご購入いただけます。

品名	Code No.	容量
Agarose S (アガロース)	316-01191	5 g
50×TAE (電気泳動バッファー)	313-90035	500 mL
Gene Ladder Wide 1 (0.1-20 kbp) (マーカーDNA)	313-06961	500 µL×2
6×Loading Buffer Orange G (ローディングバッファー)	317-90251	1 mL×3
CLEAR STAIN Blue (核酸染色用試薬)	312-08491	120 mL

教育用バイオ実験

教育用バイオ実験キット「Dr. ジーン」	Code No.	容量
Dr.ジーン 1 ver. 2 (大腸菌形質転換キット・LacZ 発現系)	310-06351	12 反应用(6 班用)
Dr.ジーン 2 (アガロースゲル電気泳動キット)	318-05431	12 反应用(6 班用)
Dr.ジーン 6 (大腸菌形質転換キット・GFP 発現系)	314-08451	1 Kit (6 班用)
Dr.ジーン 7 (植物多型解析 PCR キット)	311-08461	1 Kit (6 班用)
Dr.ジーン 8 (DNA 鑑定キット)	318-08471	1 Kit (6 班用)
ISOHAIR Jr.	Code No.	容量
ISOHAIR Jr.	314-04431	30 回用
(毛髪からの DNA 抽出試薬、PCR 用試薬、電気泳動試薬のセット)	310-04433	60 回用