

Agarose gel electrophoresis

2014. 4 ver.1

by S. Tanimura

1. アガロースゲルの作製

1.2 ~ 2.0% アガロースゲル（目的に応じてゲルの濃度を変える）となるようにアガロースを量りとり、0.5×TBE（大きいゲル 25 mL、小さいゲル 12.5 mL を目安に作成する）を加え、電子レンジで加温して溶解する。

☞ 時々攪拌すること。突沸することがあるので注意する。

☞ 素手で触れることができる程度にまで冷やした後に、トレイに流し込む（熱による変形を避けるため）。

Agarose (TaKaRa #5014/VIOGENE #LE0100)

<u>5×TBE</u>	(final)	(stock)	(500 mL)
Tris	445 mM		27 g
Boric Acid	445 mM		13.76 g
EDTA	10 mM	0.5 M	10 mL
Milli-Q H ₂ O にて 500 mL とする。			

<u>0.5×TBE</u>	(500 mL)
5×TBE	50 mL
Milli-Q H ₂ O にて 500 mL とする。	

2. サンプルの調製

パラフィルム上で以下をピペッティングにて混和し、アガロースゲルにアプライする。

{	DNA sample	X (X<9) μL
	TE or Milli-Q H ₂ O	9-X μL
	10×Loading buffer	1 μL

<u>10×Loading buffer</u>	(final)	(stock)	(1000 μL)
Glycerol	60%	100%	600 μL
EDTA (pH8.0)	50 mM	0.5 M	100 μL
Bromophenol Blue	0.1%		1 mg
Milli-Q H ₂ O			300 μL

100 bp DNA Ladder (NIPPON Genetics #MWD100)

1 kb DNA Ladder (GeneDireX #DM010-R500)

マーカーとして、目的の PCR 産物の長さに応じて 100 bp DNA Ladder (3~5 μL) 又は 1 kb DNA Ladder (3~5 μL) を用いる。

☞ マーカーは価格などに応じて製品を変更することがあります。

製品に応じてマーカーサイズが異なることがあるので、必ず使用したマーカーの製品情報を確認して実験ノートに記載して下さい。

→ 泳動 (Mupid ミニゲル泳動層 100 V にて約 40 min)

→ ゲル染色 (10~15 min in Et-Br Solution)

→ Milli-Q にて脱染 (5~15 min)

☞ 目視での確認には短時間の脱染で良いが、明瞭な写真を撮るためには十分に脱染した方が良い。

→ UV transilluminator にて写真撮影

<u>Et-Br Solution</u>	(final)	(stock)	(150 mL)
Et-Br	0.5 $\mu\text{g/mL}$	10 mg/mL (@4 °C)	7.5 μL
Milli-Q H ₂ O			150 mL