

バイオ実験キット Dr.ジーンシリーズ

Dr.ジーン 2

アガロースゲル電気泳動キット

取扱説明書 第13版



株式会社ニッポンジーン

富士フイルム和光純薬株式会社

目次

ページ

1. 本キットについて	3
2. キット内容の確認	
キット構成	4
キット以外に必要な物	5
3. 使用上の注意	6
4. 実験準備	
氷の準備	7
37℃の水浴の準備	7
アガロースゲル電気泳動用試薬の準備	
1×TAE の調製	8
アガロースゲルの作製	9
Stains-All 溶解液の調製	12
5. 各班の試薬等のチェック	13
6. 実験プロトコル	
実験の流れ	14
実験操作	15
7. データ解析	
質問例	24
解答例	27
8. 廃棄物の処理	31

1. 本キットについて

制限酵素は、DNA 中の特定の配列を正確に認識して DNA 鎖を切断する酵素です。この酵素を使って DNA 中の遺伝子を取り出し、別の DNA に結合させることで組換え体を作ることができます。この技術は遺伝子組換え実験の最も基本となる操作であり、制限酵素は遺伝子組換え実験においてなくてはならないものです。

本キットはラムダ DNA を 2 種類の制限酵素、HindIII、PvuII で切断した後、アガロースゲル電気泳動を行い、DNA を染色することにより DNA の切断パターンを確認するキットです。

この実験によって、アガロースゲル電気泳動を行うことにより、制限酵素が実際に DNA を切断していることを学生自身の目で確認し、遺伝子操作の基本となる技術を学習します。

2. キット内容の確認

本キットは、制限酵素反応、電気泳動、染色、脱色までを班ごとに行い、電気泳動は市販のミュージック電気泳動槽で行っていただくことを想定したキット構成にしております。使う泳動槽によっては試薬が不足することがありますので、その際には別途、試薬を購入していただく必要があります。

1) キット構成 (6 班分)

	容量	数量	保存	チェック
ラムダ DNA	300 μ l	6 本 (緑色チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
HindIII 酵素液	30 μ l	6 本 (黄色チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
PvuII 酵素液	30 μ l	6 本 (水色チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
コントロール用バッファー	30 μ l	6 本 (透明チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
ローディングバッファー	80 μ l	6 本 (透明チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
分子量マーカー	30 μ l	6 本 (透明チューブ)	-20°C	<input type="checkbox"/>
50×TAE	100 ml	1 本 (125 ml ボトル)	室温	<input type="checkbox"/>
Stains-All (粉末)	10 mg	6 本 (50 ml チューブ)	室温 (遮光)	<input type="checkbox"/>
ホルムアミド	120 ml	1 本 (125 ml ボトル)	室温 (遮光)	<input type="checkbox"/>
イソプロパノール	300 ml	1 本 (500 ml ボトル)	室温	<input type="checkbox"/>
アガロース S	5 g	1 本	室温	<input type="checkbox"/>
1.5 ml チューブ		各 12 本 (黄、水色、透明)	室温	<input type="checkbox"/>
チューブ立て		12 個	室温	<input type="checkbox"/>
フロート		6 個	室温	<input type="checkbox"/>



キット構成

2) キット以外に必要な物

マイクロピペット (～20 μ l用、～200 μ l用)

マイクロピペット用チップ (できればオートクレーブで滅菌してあるものが望ましい)

アガロースゲル電気泳動装置 (パワーサプライ含む)

ゲル作製用トレイ (通常、電気泳動装置に付属)

染色液用溶解液を混合する容器 (1.5 Lほどが入る容器)

染色用容器 (アガロースゲルの大きさよりやや大きめのタッパーなど)

200 ml メスシリンダー

1 L メスシリンダー

1×TAE を混合する容器 (5 リットル入れることのできる容器)

500 ml 三角フラスコ

氷、および氷を入れる容器

37°C エアークューバー、または 37°Cの水浴 (水浴の場合、本キット輸送用の発泡スチロール箱を利用すると便利です)

滅菌用エタノール (70%程度のもの)

電子レンジ

電子天秤

タイマー (時計)

温度計

油性ペン

ラップ

アルミホイル

廃棄チップ入れ (空き箱やペットボトルを切ったもの、あるいはビーカーなどでもかまいません)

3. 使用上の注意

- ◆ 本品は試験研究用試薬ですので、医薬品、その他の目的にはご使用になれません。また、試薬についての基本的な知識を十分に理解した上で使用してください。
- ◆ 本品の取り扱い、マニュアルの記載通りに行ってください。マニュアルの記載内容と異なった取り扱いによるトラブル、事故につきましては、弊社では責任を負いかねます。
- ◆ 本品の仕様は、ご使用になったお客様のご意見等を参考にして予告なく変更されることがあります。ご了承ください。

4. 実験準備

以下の操作はあらかじめ実験を指導する方が行ってください。時間に余裕があるのであれば学生が行ってもかまいません。

1) 氷の準備

可能であれば各班の分を準備します。氷が大きい場合は氷中にチューブを差し込むことができるサイズに砕いてください。氷が少量しか用意できない場合には、水を入れて、フロートでチューブを浮かべて使用してください



氷を入れた発泡スチロール箱

2) 37℃の水浴の準備

37℃のエアインキュベーター、または水槽のインキュベーター(ウォーターバス)を利用します。エアインキュベーター、または水槽のインキュベーターが無い場合、本キットの輸送用発泡スチロールに、37℃の水を作ります。

実験前に作ると実際に使用する時には冷めてしまいます。各班反応をかける準備ができてから作った方が良いでしょう。



37℃のお湯を入れた発泡スチロール箱

3) アガロースゲル電気泳動用試薬の準備

以下の試薬の調製には水を使用します。できればイオン交換水、または蒸留水を使用します。もし無い場合には水道水を使用してください。

① 1×TAE の調製

1×TAE は以降の操作（アガロースゲルの作製、電気泳動、ゲルの染色液調製）で必要なため、まとめて作ります。キットの 50×TAE 100 ml を 5 リットル入れることのできる容器に入れます。次に水を 4,900 ml 加えます。スターラーなどで攪拌してバッファーをよく混合します。

作ったバッファーは電気泳動用に各班分 400 ml ずつ、試薬瓶かビーカーなどに分けます。

残りのバッファーはアガロースゲル用、染色液調製用に使います。



50×TAE を水で希釈する



ポリバケツなどで混合する

必要な 1×TAE の量は電気泳動槽の大きさ、数などによって変わります。

本キットにはミュージッド電気泳動槽を各班で一台ずつ使用することを想定した量の試薬が含まれています。泳動槽の数が少なければ 1×TAE 量はもっと少なくてすみませんが、ミュージッド泳動槽よりも大きな泳動槽を各班で使用する場合には、作製する 1×TAE 量は多くしなければなりません。

TAE が不足する場合には別途 50×TAE を購入していただく必要があります。

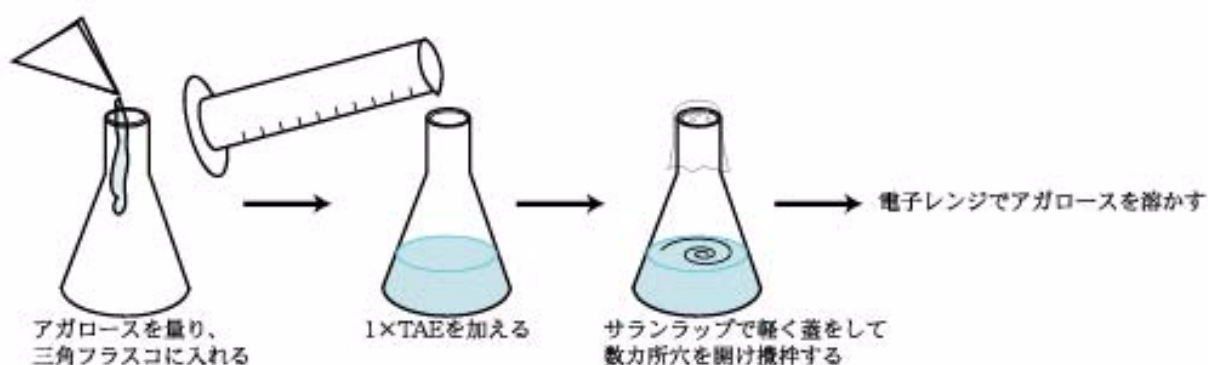
② アガロースゲルの作製

ここではミューピッドゲルに付属しているゲル作製用トレーを使ったアガロースゲル作製方法を示します。異なる泳動槽を使用する場合は、その泳動槽のゲル作製方法に従ってください。

アガロースゲルは、一実験あたり小さなゲル (5.9 cm×5.1 cm) 一枚使用します。したがって、一班 (4人、2実験) につき小さなゲル 2枚、あるいは大きなゲル (5.9 cm×10.2 cm) 一枚を使用することになります。

6班分 (12実験) ですと、小さなゲル 12枚で足りることになりますが、失敗したときのために少し余分に作っておくとよいでしょう。

以下はゲル作製用トレーひとつ分 (小さなゲル 4枚、大きなゲル 2枚) の作製方法です。



アガロースゲルは、分離したい目的の DNA の予想される大きさに応じて種類やアガロース濃度を変えます。今回は一般的に使われている 1% (W/V) 濃度のアガロースゲルを作製します。

まず、キットのアガロース S を 2 g 量り、500 ml 程度の三角フラスコにいれ、1×TAE を 200 ml 加えます。三角フラスコにラップで軽く蓋をして何カ所か穴を開け、フラスコを攪拌します。

- 穴を開けないでラップで密閉してしまうと、電子レンジで溶かす際にフラスコ内の空気が膨張してラップが破裂します。



アガロースの計量



1×TAE に懸濁する

三角フラスコを電子レンジに入れ、約5分にセットします。しばらくするとアガロースが沸騰し始め、細かい気泡が出てきます。その時点で一度電子レンジからフラスコを取り出し、よく振り混ぜアガロースを攪拌してください。そのままにしておくと沸騰したアガロースがフラスコから吹き出すおそれがあります。

攪拌後、泡が吹き出さないようにフラスコをよく見ながらさらに1～2分程度電子レンジで溶解します。ときどき取り出してアガロースの様子を確認して、透明な粒状のものがなくなり、溶液が均一な状態になるまで溶かします。

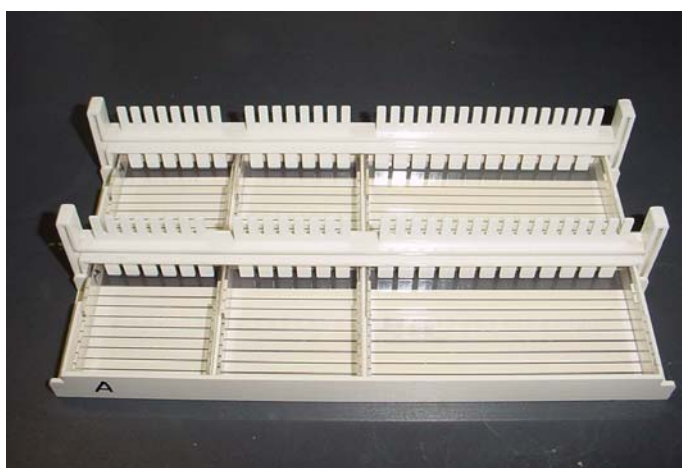


電子レンジでアガロースを溶解する

電子レンジから出した後は、50～60℃（手でフラスコを持てる程度）になるまで室温に置いておきます。

- 水や氷につけて冷やさないようにしてください。ゲルが部分的に固まってしまう恐れがあります。均一でないゲルを使用するとき綺麗な電気泳動像が得られません。
- 電子レンジから出した直後のアガロースをゲル作製用トレーへ流し込まないでください。熱によってトレーが変形することがあります。

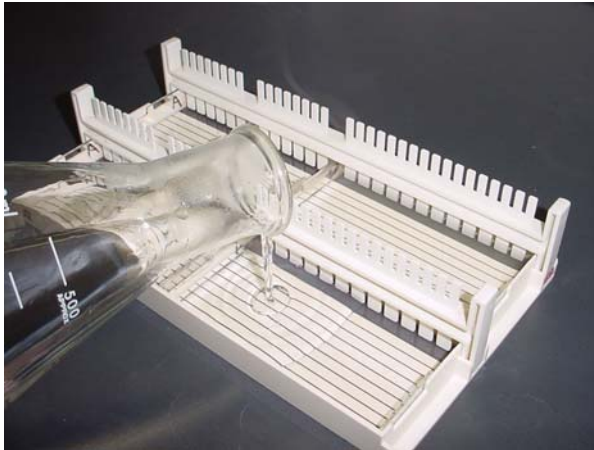
この間にアガロース作製用トレーを組み立てておきます。大きなゲル（5.9×10.2 cm）でウェル（電気泳動の際、サンプルを入れるところ）が12穴作れる大きさのコームを使用するとき綺麗な泳動像が得られます。



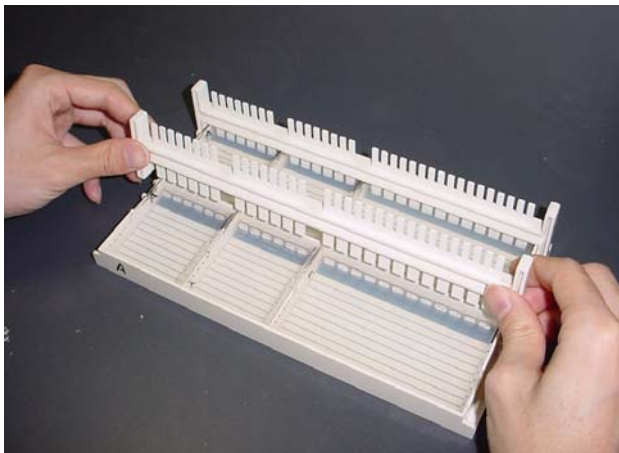
ゲル作製用トレーを組み立てる

溶解したアガロースが 50～60℃になったら、組み立てておいたゲル作製用トレーにアガロースを注ぎます。ゲルが固まるまで室温に放置し、固まったらコームをゆっくりと抜きます。ゲルはラップなどをして乾燥しないようにし、使用時まで冷蔵庫で保管します。

- 室温に置いておくうちにゲルが固まってしまったときは、もう一度電子レンジで溶かして使用してください。
- コームは慎重に抜いてください。乱雑に扱うとアガロースゲルのウェルが壊れることがあります。



ゲルをトレーへ流し込む



ゲルが固まったらコームを抜く

③ Stains-All 溶解液の調製

Stains-All を溶かすための溶液を作製します。一班につき 200 ml 使用しますので、6 班分では 1200 ml を作製します。

1200 ml 入れることのできる容器に、付属のホルムアミド全量 (120 ml)、イソプロパノール全量 (300 ml)、そしてあらかじめ作っておいた 1×TAE を 780 ml 加えよく混合します。

作った溶解液は各班用に 200 ml ずつ試薬瓶等の容器に分け、容器の周りをアルミホイルなどで包んで遮光しておきます。

この溶解液は実験直前に調製してください。



5. 各班の試薬等のチェック

本キットは一班 2~6 人で各班 2 実験分、6 班分の試薬が入っています。一つのチューブに 2 実験分の試薬が入っていますので、実験者は、必要量の試薬をそれぞれの実験台に置かれた試薬チューブからマイクロピペットで取り実験を行います。

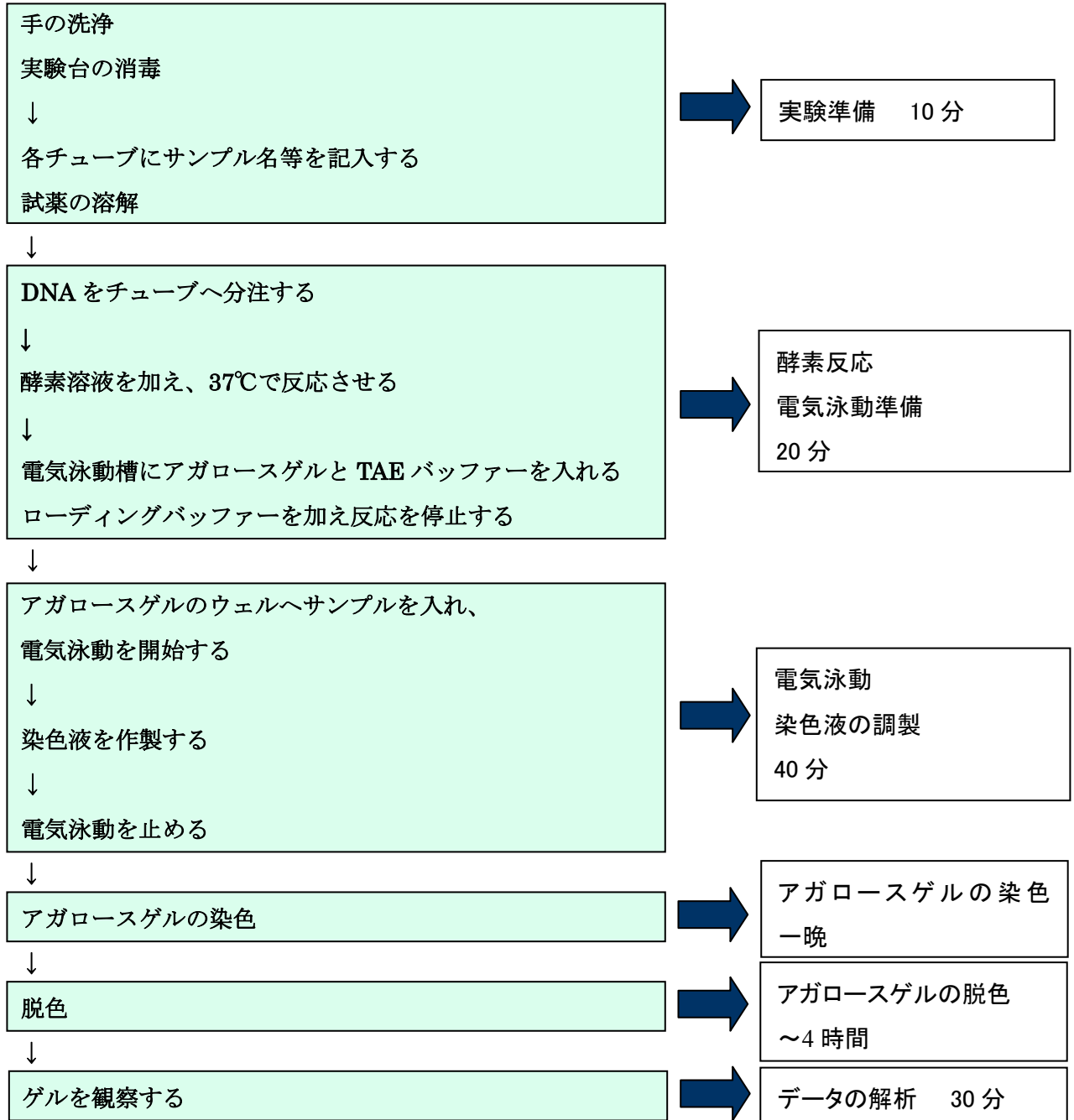
一班分 2 実験

	容量	数量	チェック
ラムダ DNA	300 μ l	1 本 (緑色チューブ)	<input type="checkbox"/>
HindIII 酵素液	30 μ l	1 本 (黄色チューブ)	<input type="checkbox"/>
PvuII 酵素液	30 μ l	1 本 (水色チューブ)	<input type="checkbox"/>
コントロール用バッファー	30 μ l	1 本 (透明チューブ)	<input type="checkbox"/>
ローディングバッファー	80 μ l	1 本 (透明チューブ)	<input type="checkbox"/>
分子量マーカー	30 μ l	1 本 (透明チューブ)	<input type="checkbox"/>
1×TAE	400 ml		<input type="checkbox"/>
Stains-All (粉末)	10 mg	1 本 (遮光)	<input type="checkbox"/>
Stains-All 溶解液	200 ml		<input type="checkbox"/>
アガロースゲル		小 2 枚 (大 1 枚)	<input type="checkbox"/>
1.5 ml チューブ (黄、水色、透明)		各 2 本	<input type="checkbox"/>
チューブ立て		2 個	<input type="checkbox"/>
氷			<input type="checkbox"/>
マイクロピペット (~20 μ l 用、~200 μ l 用)		各 1~2 本	<input type="checkbox"/>
マイクロピペット用チップ			<input type="checkbox"/>
フロート		1 個	<input type="checkbox"/>
37℃の水浴 (37℃エアインキュベーターがない場合)			<input type="checkbox"/> (各班共通でも可)
電気泳動装置		1 組	<input type="checkbox"/>
温度計			<input type="checkbox"/>
タイマー (時計)			<input type="checkbox"/>
油性ペン			<input type="checkbox"/>
滅菌用エタノール			<input type="checkbox"/>
廃棄物入れ			<input type="checkbox"/>

注意：ラムダ DNA、HindIII 酵素液、PvuII 酵素液、コントロール用バッファーは氷に浸けておいてください。

6. 実験プロトコル

実験の流れ



※実験時間はおよその目安です。

実験操作

実験の前に、実験室の窓および扉は閉めておいてください。

ここでは **1 実験分** の操作について説明します。本キットは 6 班で各班 2 実験行うことを想定してあります。試薬によっては一つのチューブに 2 実験分が入っていますので間違わないようにしてください。

1. 石けんで手を洗います。
2. ティッシュペーパーなどに 70% の滅菌用エタノールを含ませ、実験台を拭きます。
3. 実験台に試薬、器具が揃っているか確認します。
4. 黄色のチューブの蓋に油性ペンで HindIII、青いチューブに PvuII、透明なチューブにコントロールと書きます。必要であれば班名も書いておきます。
5. 試薬が溶けていることを確認し、氷上の HindIII 酵素液（黄色チューブ）、PvuII 酵素液（水色チューブ）、コントロール用バッファー（透明チューブ）のチューブからマイクロピペットを用いて $10\mu\text{l}$ ずつ溶液をとり、それぞれ同じ色の 1.5 ml チューブに入れて氷に浸けておきます。
チップはサンプルごとに新しいものと交換してください。

■ 酵素溶液はできるだけチューブの底へ入れてください。まだ凍っている場合は、室温に置いて溶かしてもかまいませんが、完全に溶けたら氷上に移してください。

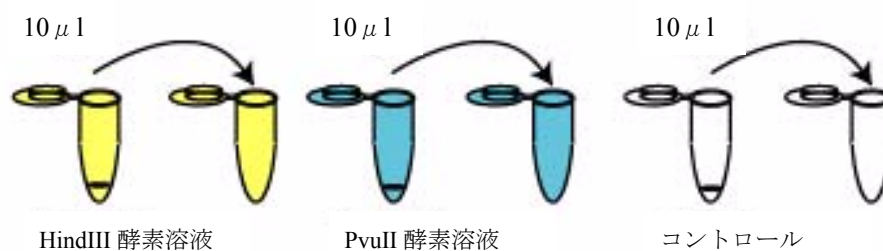




写真 1

各チューブを氷に浸けておく

- 酵素溶液は DNA 溶液を加えるまで必ず氷の中に浸けておきます。長時間室温に放置したり、乱暴な扱いをすると酵素の活性が低下することがあります。

6. HindIII、PvuII、コントロールのチューブにそれぞれラムダ DNA（**緑色チューブ**）を $40\mu\text{l}$ ずつ加え、ゆっくりと泡立てないようにピペッティング（マイクロピペットで溶液を数回吸ったり出したりすること）して反応液を混合します（写真 2）。その際、チップはサンプルごとに新しいものに交換してください。

ここからの操作はすべて室温でかまいません。

- ラムダ DNA は、酵素溶液に加える前に数回穏やかにピペッティングして溶液全体を均一にしてください。（ラムダ DNA は約 48 キロ塩基対と非常に長いため、激しいピペッティングにより DNA が切断される可能性があります。）

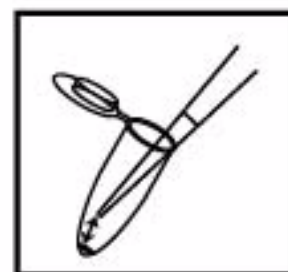
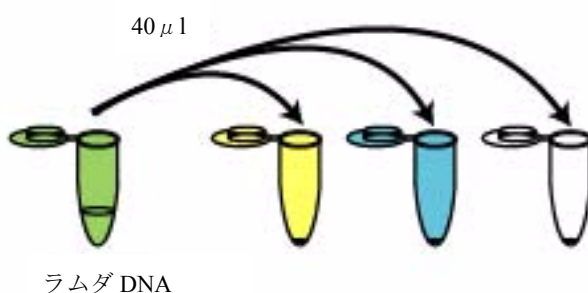




写真2 ピペットで各チューブへ DNA を加える

7. 反応液の入ったチューブを 37°Cのエアインキュベーターまたは水浴に入れ、15 分間インキュベートします (写真3)。

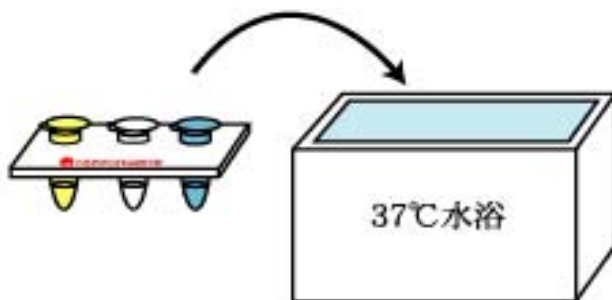


写真3 37°Cで酵素反応を行う

- 反応時間が短すぎると酵素反応が不十分になり DNA が完全に切断されないことがありますのでご注意ください。

8. あらかじめ作製しておいた 1% アガロースゲルを電気泳動槽に置き、ゲルが完全に浸るまで泳動用バッファー (1×TAE) を泳動槽に注ぎます。このとき、ゲルはウェル (コームで作った DNA サンプルを入れるための穴) のある方が一極側になるようにして下さい (写真 4)。



写真 4 電気泳動の準備 (泳動槽の右側が一極)

9. 反応終了後、ローディングバッファー 10 μ l を反応液の入ったチューブに直接加え、数回ピペッティングすることで、反応液を混合します (写真 5)。そのうち 10 μ l をアガロースゲル電気泳動に用います。

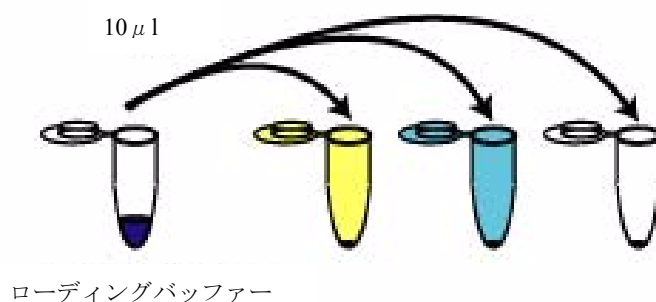




写真5 ローディングバッファーを酵素反応液へ加える

10. 分子量マーカー、コントロール、HindIII で処理したラムダ DNA 及び PvuII で処理したラムダ DNA を各 $10\mu\text{l}$ ずつ順番にゆっくりとゲルのウェルに入れます (写真 6)。1 つのサンプルをウェルに入れるごとに、泳動バッファー中で数回ピペッティングをし、チップ内を洗います (写真 7)。チップをサンプルごとに交換する必要はありません。

■ サンプルはゆっくりウェルに入れます。勢いよく押し出すと泳動バッファー中にサンプルが舞い上がってしまいます。

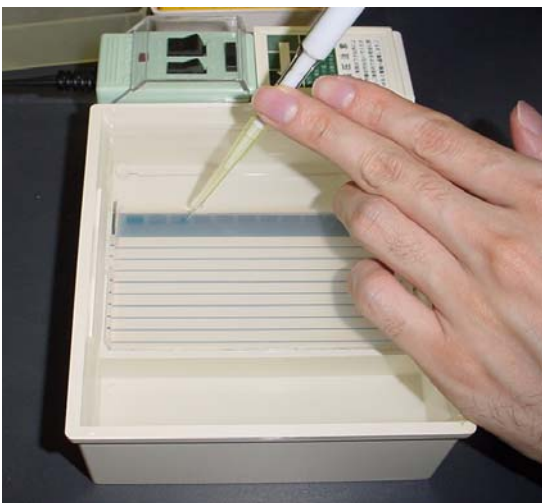
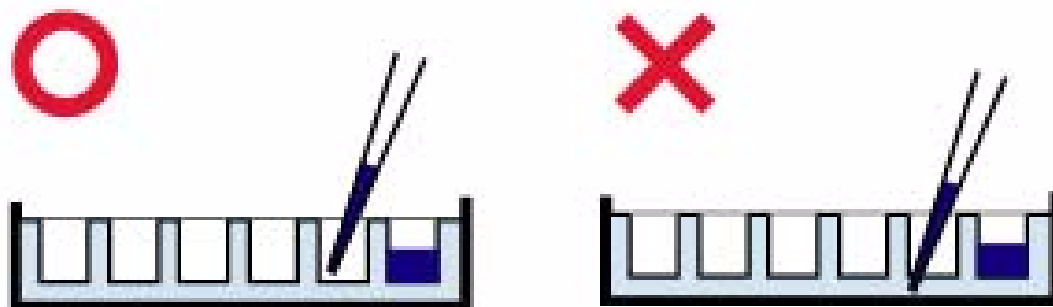


写真6 サンプルをアガロースゲルへ



写真7 チップをバッファーで洗う

- ウェルの奥までチップを入れないようにしてください。奥まで入れすぎるとチップがアガロースゲルを突き破ってしまい、サンプルがアガロースゲルの裏側から漏れて無くなってしまうことがあります。



11. すべてのサンプルをウェルに入れたら、泳動槽に蓋をして電圧をかけ 100V で約 30～40 分、あるいは 50V で 1 時間～1 時間 30 分程泳動します。泳動時間は使用する電気泳動槽によって異なります。低い電圧で流した方がバンドはきれいになります。

- 電気泳動中は泳動槽のバッファー内に手や指などを入れないでください。感電する恐れがあり危険です。

12. 電気泳動の間に染色液を作製します。

50 ml チューブに入った Stains-All (粉末) に、Stains-All 溶解液を 30～40 ml 程度加え (写真 8)、蓋をしっかりと締めてよく攪拌します。攪拌した溶液は Stains-All 溶解液へ戻し、よく混ぜます (写真 9)。もう一度 20 ml 程度を粉末の入っていたチューブに入れ、よく攪拌してからまた Stains-All 溶解液へ戻します。これをさらに一、二回繰り返して 200 ml の染色液を作ります (写真 10)。最後にアルミホイルなどで染色液の容器を完全に包んでおきます (写真 11)。



写真8 Stains-All に溶解液を加える



写真9 攪拌して溶解後、溶解液の容器へ戻す



写真10 できあがった染色液



写真11 染色液の遮光

この染色液は光により急速に劣化します。しっかりと遮光し、使用直前（数時間前なら可。その場合は冷蔵庫で保存してください）に調製してください。

13. 泳動が進むと、ローディングバッファーに含まれる2種類の色素(XCとBPB)が分離して、BPB(紫色)は先に、XC(青色)はゆっくりと流れます(写真12)。BPBがゲルの末端(+極側)から0.5cm程度まできたら、泳動を止め、ゲルを染色用容器(タッパーなど)に入れます(写真13)。アガロースゲルは壊れやすいので、取り扱いには十分注意してください。



写真12 電気泳動の様子



写真13 電気泳動終了後、タッパーへ

14. ゲルの入った容器に **Stains-All** 染色液をゲルが浸る程度まで加え(写真14)、完全に容器を遮光して室温で一晩染色します(写真15)。

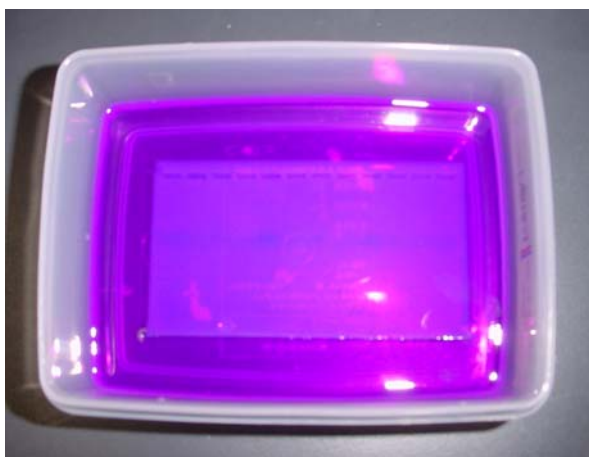


写真14 染色液を加える



写真15 遮光して一晩置いておく

15. 翌日、Stains-All 染色液を別の容器に捨て、ゲルの入った容器に水道水を入れ脱色します(写真 16)。脱色操作は遮光せず室温で行います。脱色が進むにつれ DNA が青いバンドとしてはっきり見えてきます (写真 17)。

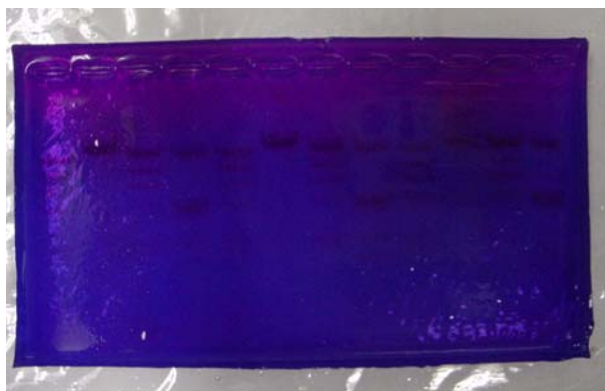


写真 16 染色直後のゲル

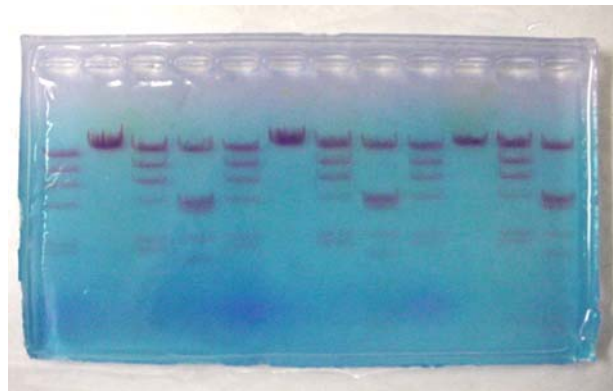


写真 17 脱色後のゲル

すぐに観察しないときは水を入れたタッパー中で遮光して保存してください。光に当たると DNA のバンドの青色も徐々に抜けていってしまいます。保存は遮光してあれば冷蔵庫でも室温でもかまいません。遮光したままの状態であれば DNA のバンドは数ヶ月間安定に維持できますが、できればデジタルカメラ等でゲルの写真を残しておくといいでしょう。

7. データ解析

質問例

質問 1. コントロールのラムダ DNA のバンド数はいくつで、ゲルのどの位置にありますか。

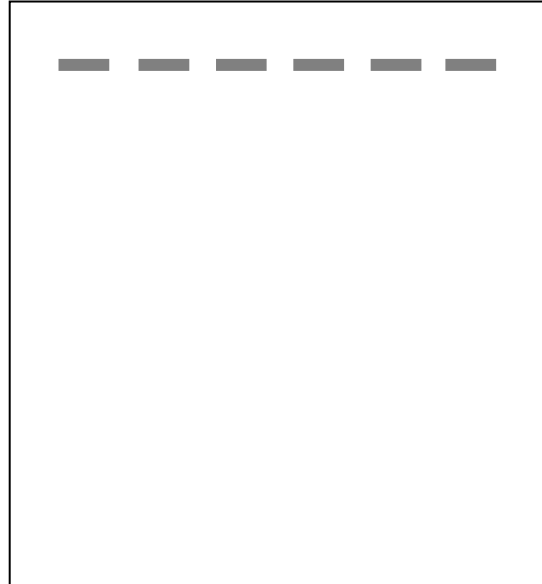
質問 2. ラムダ DNA を HindIII で処理した後とコントロールのラムダ DNA とでは電気泳動後のバンドがまったく違います。

何本のバンドが見えますか。なぜ、ゲル上のいろいろな位置にバンドが見られるのでしょうか。

質問 3. PvuII で処理したラムダ DNA には何本のバンドがありますか。HindIII で処理したときとゲル上での位置が違いますがなぜでしょうか。

質問 4. その他電気泳動の結果で何か気付いたことはありますか。

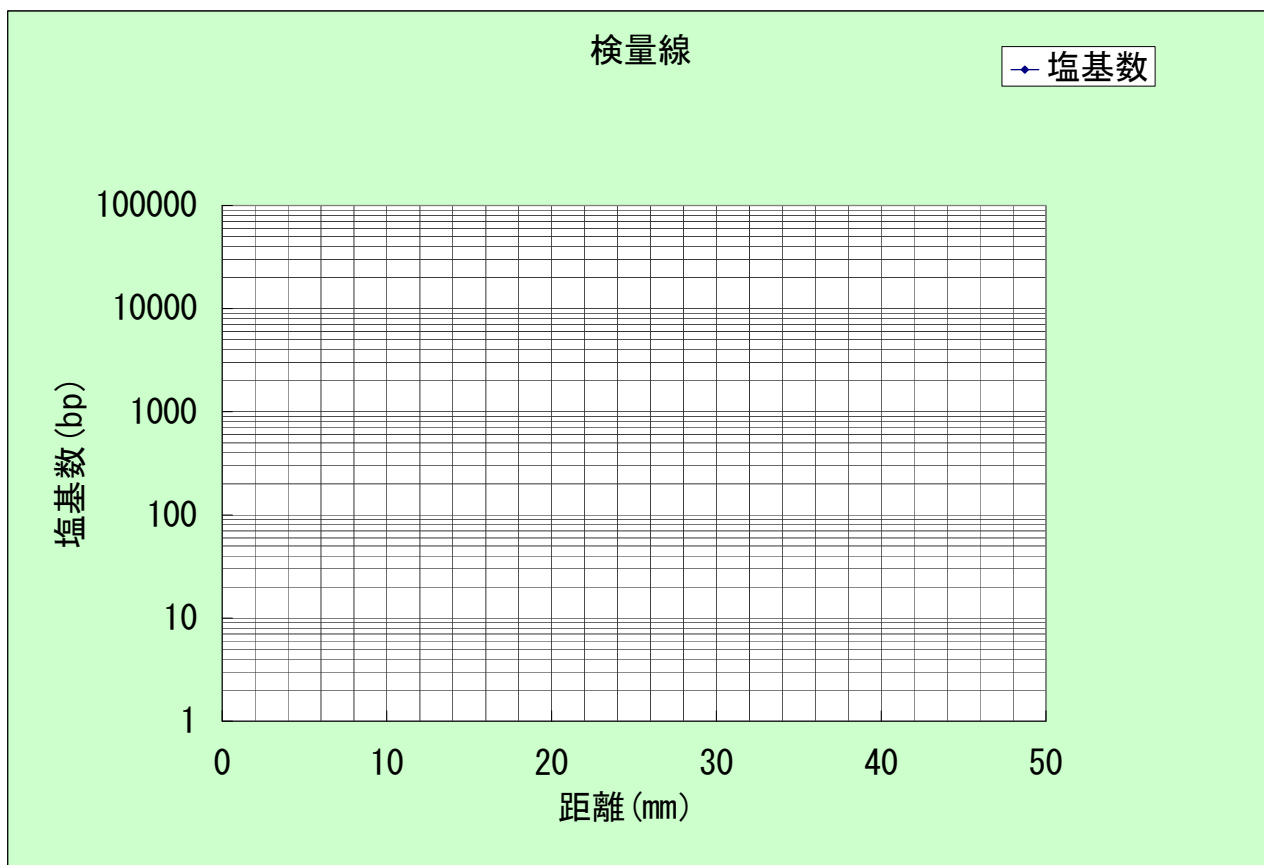
1. 染色後のゲルを観察して、バンドの距離を定規などを用いて測定し、できるだけ正確にスケッチしてください。



2. 各レーンの DNA のウェルからの距離を測定し、下の表の空欄に記入してください。

	マーカー		コントロール ラムダDNA		HindIII処理した ラムダDNA		PvuII処理した ラムダDNA	
	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)
バンド1		23130						21090
バンド2		9417						4421
バンド3		6557						4268
バンド4		4361						4194
バンド5		2322						3916
バンド6		2072						3638
バンド7		563						
バンド8		125						

3. マーカーのバンドのウェルからの距離に対応する位置を、片対数グラフにプロットして下さい。



4. 上のグラフでプロットした点を直線で結び、その直線をもとに前ページにある表中で空欄になっている塩基数を推定して下さい。

解答例

質問 1

アガロースゲルの上部で、はっきりとした濃いバンド一本のみ見られる。

※ラムダ DNA は非常に大きな直鎖状 (約 48 kbp) DNA ですので、アガロースゲル中の移動度は小さく、濃い一本のバンドとなります。

質問 2

DNA のバンドは 6 本 (あるいは 7 本) 見られる。

HindIII がラムダ DNA 上の特定の配列を認識し、切断したためいろいろな大きさの DNA 断片が生じた。アガロースゲル電気泳動では DNA の大きさによって移動度が異なるためさまざまな位置にバンドがみられる。

※HindIII はラムダ DNA 上の AAGCTT という塩基配列を認識し切断します。ラムダ DNA には HindIII の認識部位が次ページの表のように 7 カ所あるため、DNA 断片が 8 本さまざまな大きさで生じます。アガロースゲルの網目構造によって、大きな DNA はゲル中の移動が遅く、小さな DNA は移動が早くなるためそれぞれの断片が分離します。

質問 3

DNA のバンドは 5 本みられる。

PvuII は HindIII とは違う配列を認識するため、ラムダ DNA の切断箇所、それから認識部位の数も異なっている。そのため HindIII の時とは大きさの違う DNA 断片ができ、電気泳動でのパターンも変わってくる。

※観察されるバンドの数は電気泳動、あるいは染色の条件によって変わってきます。

PvuII は CTGCAG という配列を認識し、ラムダ DNA での切断箇所は 16 カ所あります。しかしそれほど多くの断片がアガロースゲル上で見られないのはできてくる断片が比較的小さいものが多く、ゲルの下方へ流れてしまっていて濃く染色されないためです。

質問 4

PvuII で切断した DNA の上から 2 番目のバンドが非常に濃い。

※次ページの表にあるように PvuII の 2~5 番目の大きさがかなり近く、アガロースゲルでは分離されずに一つの大きなバンドとなってしまうためです（条件次第では数本に分離することもあります）。これらを生離するためには、もっと大きなゲルで長時間泳動する方法が必要となります。

ゲルの下部のバンドほど色が薄くなっている。

※制限酵素で切断した DNA から生じる断片の分子数は、その大きさにかかわらず同じです。したがって、分子量（DNA サイズ）の大きな DNA ほど染まりやすく、小さな DNA ほど染色液で染まりにくくなります。

DNA の量を多くすれば下のバンドも濃く染まりますが、上部の大きな DNA の分離は悪くなります。

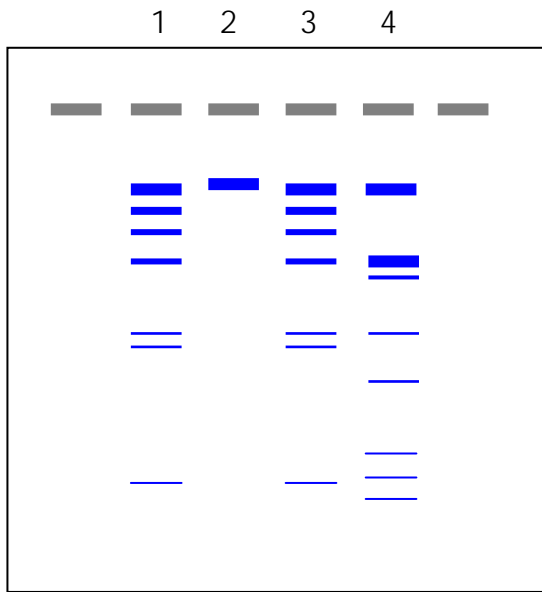
DNA のバンドの両端、あるいはコントロールのラムダ DNA のバンドが上に引っ張られて糸を引いたようになっている。

※DNA がアガロースの網目を通ってくる際に、大きな DNA ほど網目に引っかかりやすくなるため糸を引いたような形になると思われます。高い電圧で速く流すほどこの現象は起こりやすくなります。

〈参考〉ラムダ DNA を制限酵素で切ったときの実際の断片長

酵素	切断箇所	断片の長さ (base pairs)								
ラムダ DNA		48,502								
ラムダ DNA /HindIII	7 カ所	23,130	9,417	6,557	4,361	2,322	2,027	563	125	
ラムダ DNA /Pvu II	15 カ所	21,090	4,421	4,268	4,194	3,916	3,638	2,296	1,708	
		636	579	532	468	343	209	141	63	

1.



1. マーカー
2. コントロールラムダ DNA
3. ラムダ DNA / HindIII
4. ラムダ DNA / PvuII

2.

	マーカー		コントロール ラムダDNA		HindIII処理した ラムダDNA		Pvu II 処理した ラムダDNA	
	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)	距離 (mm)	塩基数 (bp)
バンド1	16	23130	15	15000	16	12000	16	21090
バンド2	19	9417			19	10000	26	4421
バンド3	22	6557			22	7000		4268
バンド4	26	4361			26	5000		4194
バンド5	33	2322			33	2500		3916
バンド6	34	2072			34	2000	28	3638
バンド7	48	563			48	500	33	2500
バンド8		125					36	1800

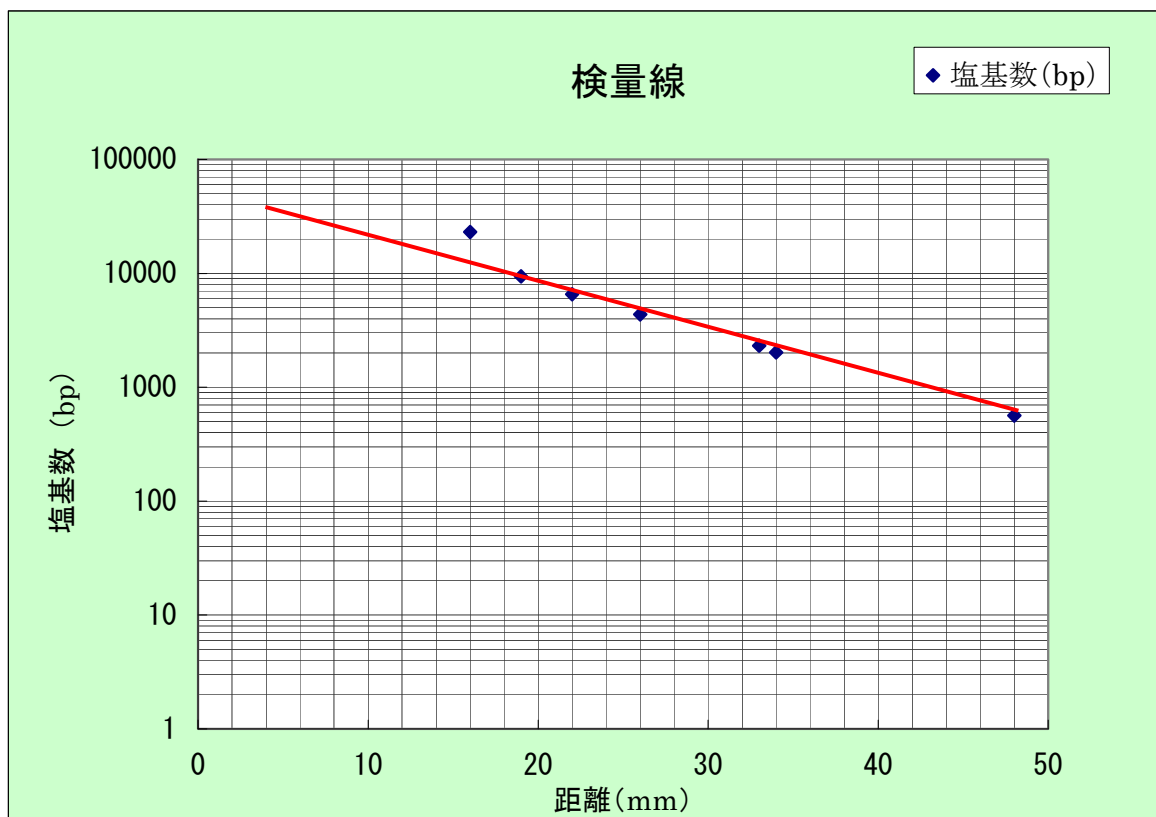
上の表はゲルから求めた DNA の移動度と、マーカーをもとにして書いた検量線から推定した DNA の大きさの例です。マーカーと PvuII 断片の一部の数値は参考として正確な DNA 断片の大きさを表しています。

この検量線から求められる DNA のサイズはそれほど正確ではなく、おおよその数字を出すものです。

特に今回作製した 1% のアガロースゲルでは、大きなサイズ (およそ 10 kbp 以上) の DNA ではほとんど移動度に差が出ないためかなり不正確になります。

片対数グラフ上でプロットした点をもとに検量線を引く際には、小さな (1 kbp ~ 10 kbp) 点を基準にして引くと比較的正確な数値になります。

3.



4.

前ページの表参照。

8. 廃棄物の処理

1) 実験後のバッファー類の廃棄について

電気泳動バッファー(TAE 廃液)は産業廃棄物として処理してください。

アガロースゲルは可燃物として廃棄してください。

製品についてのお問い合わせ先

富士フイルム和光純薬株式会社

フリーダイヤル: 0120-052-099

フリーファックス: 0120-052-806

株式会社ニッポンジーン

TEL: 076-451-6548

<http://www.nippongene.com/siyaku/>

《A05110-1704-1804》