

DNA アガロースゲル電気泳動

PCR 産物を 1 ～ 2% アガロースゲル内で電気泳動することにより、鎖長ごとに分離する (長いほどアガロース内の移動速度が落ちる)。ゲル切りを行って DNA を回収することも可能。ただしその際は紫外線を当てすぎないように注意。

必要なもの

- ・ 適当なチューブ 1 本以上 or パラフィルム
- ・ アガロース 適量
- ・ 1x TAE 20 ～ 80ml
- ・ 1,000x SYBR Gold or SYBR Safe DMSO 溶液 10 ～ 40ul + 1x TAE 適量
- ・ PCR 産物 2ul
- ・ 1.5x loading dye 4ul /sample+ マーカー
- ・ ラダーマーカー 2ul

手順

1. ビンにアガロース 適量と 1x TAE を必要量の 1/2 強入れて電子レンジで加熱
2. アガロースが溶けたら残りの 1x TAE を加えて混ぜ、型に流し込む
3. PCR 産物をスピンドウン
4. 1.5x loading dye 4ul x(サンプル数 +1) に PCR 産物 2ul を加える
5. 固まったゲルを泳動槽にセット
6. 4 とラダーマーカーをゲルの穴に apply
7. 泳動槽のふたをきっちり閉めてから極性方向に注意して電源 ON (電極付近から気泡が発生しているかよく確認すること)
8. 適当な時間電気泳動を行う
9. ゲル型に 1x TAE 適量 (ゲル作成に要した量の半分) を入れ 1,000x SYBR Gold or SYBR Safe DMSO 溶液を 1x になるよう混合 (SYBR Safe の希釈済 TAE 溶液の場合はそのまま使う)
10. ゲルをゲルトレイから外して 9 に漬け込む
11. アルミホイルを被せて 1 時間以上放置 (時々揺ると良い)
12. トランスイルミネータで UV か青色光を当てて泳動像を確認

SYBR Safe の場合は 1x になるようにゲルに混合してしまってもよい (これをプレキャストとかプレスティンと呼ぶ)。SYBR Gold ではプレキャストすると泳動像が乱れてしまうのでできない。