

Biotium 社 GelRed™ 染色プロトコール

メーカーコード# 41002, 41003

(コード No. 518-24031, 514-24033, 519-20301, 513-20304, 515-20303)

染色に関する注意事項

- GelRed™ はアガロースゲルにおいて「先染め(ゲル作製時に添加)」および「後染め(泳動後に染色)」の両方に使用可能です。後染めは感度が高く、染料がバンドの移動に干渉するリスクを軽減します。
- アクリルアミドゲルでは後染めを使用してください。
Biotium 社ではポリアクリルアミドゲルのゲル密度に最適化された染色試薬である『PAGE GelRed™』も提供しています。
- GelRed™は、先染めおよび後染め済みの GelRed™ゲルにおいて、一般的に使用されるローディングバッファーと併用可能です。Biotium 社では、6X ローディングバッファー(15%グリセロール、7.5% Ficoll 400、0.05%プロモフェノールブルー)やトラッキングダイである 0.1% Patent Blue VF または 0.1% Orange G を使用した場合に、良好な結果が得られています。ローディングバッファーに含まれる SDS は、先染め GelRed™ ゲルでバンドのスミアを引き起こす可能性があるため、後染めで使用することをおすすめします。ローディングバッファーまたはランニングバッファーに GelRed™を添加する必要はありません。
- 先染めゲルへの推奨ロード量は、1 レーンあたり 50~200 ng の DNA やラダー、または 2~5 μ L の PCR 産物です。DNA 濃度が不明な場合は、通常 EtBr ゲルにロードする量の 1/2~1/3 の量をロードしてください。より多くの DNA をロードする必要がある場合は、後染めプロトコールを使用してください。
- GelRed™は UV トランスイルミネーターと EtBr フィルターで撮影可能です。SYBR®または GelStar フィルターも同様の画質でゲル撮影が可能です。GelRed™の蛍光スペクトル (Figure 1) を参照し、適切な波長を確認してください。

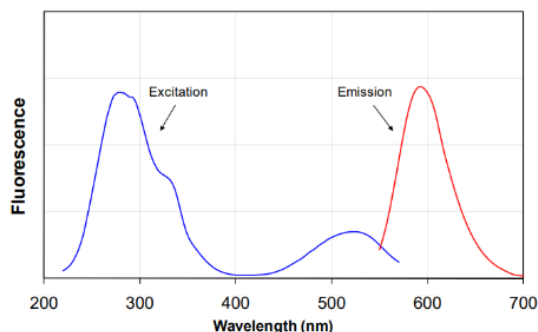


Figure 1. Excitation (left) and emission (right) spectra of GelRed® bound to dsDNA in TBE.

先染め（アガロースゲル）プロトコール

※ポリアクリルアミドゲルには先染めプロトコールは推奨されません。ポリアクリルアミドゲルは、後染めプロトコールを使用して染色可能です。

1. ゲルの準備

各自の標準プロトコールに従ってアガロースゲル溶液を作製します。

2. 染色溶液の添加

○調製したアガロースゲル溶液に対し GelRed™ 10,000X ストック試薬を 1:10,000 の割合で希釈し、よく混合します。GelRed™はゲル溶液がまだ熱い状態でも添加可能です。

○ゲルを形成し、固化させます。

3. ゲル電気泳動と観察

サンプルをロードし、各自の標準プロトコールに従ってゲル電気泳動を行います。

トランスイルミネーター（302 nm または 312 nm）で染色されたゲルを観察し、EtBr フィルターを使用してゲルを撮影します。SYBR®または GelStar フィルターも、同様の良好な結果でゲル撮影に使用可能です。

ゲルの保存方法

GelRed™ を含む残りのゲル溶液は、遮光して常温で保存し、使用する前に再加熱してゲル形成に再利用できます。GelRed™で先染めしたゲルは、暗所・常温で最大 1 週間保存可能です。GelRed™で先染めしたゲルを 4°C で保存すると、染料の沈殿や性能低下が生じる可能性があります。

※染色溶液は少なくとも 2~3 回再使用可能です。染色溶液は、遮光して室温で保管してください。

後染め（アガロースゲルまたはアクリルアミドゲル）プロトコール

1. ゲル電気泳動

各自の標準プロトコールに従い、ゲル電気泳動を行います。

2. 染色溶液の作製

GelRed™ 10,000X ストック溶液を H₂O で 3,300 倍に希釈し、3X 染色溶液を作製します。

ミニゲル 1 つあたり、50 mL の染色溶液が適量です。

※感度向上のために、0.1 M NaCl を染色溶液に加えることができますが、再使用時に染料が沈殿することがあります。

3. ゲルの染色

○ゲルをポリプロピレン製の染色トレイなどの適切な容器に移します。

○ゲルが完全に浸かる量の 3X 染色溶液をトレイに注ぎます。

○室温でゲルを約 30 分間振とうします。

※ゲルの厚さやアガロースの濃度によって最適な染色時間が異なる場合があります。3.5～10%のアクリルアミドを含むポリアクリルアミドゲルでは、通常 30 分～1 時間の染色時間が必要です。アクリルアミド濃度が高いゲルでは、より長い染色時間が必要です。

4. 脱色

脱色は不要ですが、バックグラウンドを軽減したい場合はゲルを水で軽く洗浄します。

5. ゲルの撮影

トランスイルミネーター（302 nm または 312 nm）で染色したゲルを観察し、EtBr フィルターを使用してゲルを撮影します。SYBR[®]や GelStar フィルターも、同様の良好な結果を得られるため、ゲル撮影に使用可能です。

試験・研究の目的での使用に限ります。SYBR[®]は Thermo Fisher Scientific 社の登録商標です。