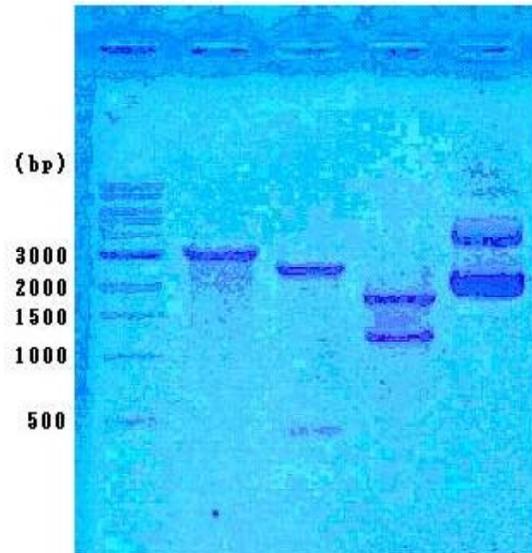


◆◇◆ 電気泳動によるDNAの分析について ◆◇◆

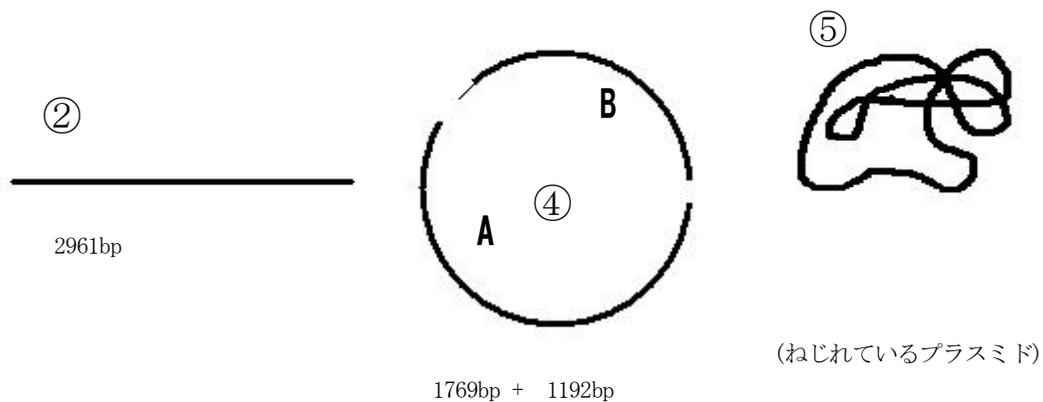
1. アガロースゲル電気泳動写真

茨城大学農学部 提供



2. 各試料の形状

- | | | |
|----------------|------------------|---------|
| 1: 分子量マーカー | 1 kb ラダー | 切断数 |
| 2: pBluescript | EcoRI (GAATTC) | 1ヶ所 |
| 3: pBluescript | PvuII (CAGCTG) | 2ヶ所 |
| 4: pBluescript | Rsa I (GTAC) | 2ヶ所 |
| 5: pBluescript | 未切断DNA | (複数の形状) |



3. 授業のタイムスケジュール (2時間連続授業)

ピペット操作練習(30分) → ウェルに入れる(10分) → 電気泳動(30分) → 染色(30分) → 観察(10分)

4. 指導のポイント

- (1) パラフィルム上で10 μ Lを完全に出す, 吸い取る, を繰り返す。
最後に, 予備のゲルを使ってウェルに入れる練習をする。
- (2) 各班にあらかじめ経験者を作っておくとうまく進む。
- (3) 100V 25分程度で色素がゲルの2/3程度まで進む。ここで止める。
この間に実験の説明をする。
- (4) 染色は2分で十分。
染色液は次の班にも使わせるので, 4班程度に1セットは用意したい。
脱色の方法は流水では不可, 振とうがよい。
振とう(4分)+排水・新しい水(1分) を4回程度繰り返す。
- (5) スライドビューアー, OHP投影機などがよい。デジカメで記録可能。

5. 試薬類の調製

- (1) 50 \times TAEバッファー

Tris 2M	60.5 g	}	250 mLにメスアップ 使用時には50倍希釈
氷酢酸	14.3 mL		
0.5 EDTA (pH8.0)	25 mL		
蒸留水	150 mL		
- (2) アガロースゲル

アガロースゲル	0.96 g	三角フラスコでよく混ぜる。
1 \times TAEバッファー	120 mL	

電子レンジ(あたためモード)で1回沸騰させ, もう1度沸騰させる。
スターラーを用いてよく混ぜる。(軍手を使うこと)
持てる程度にさめたら, 型に流して冷めるのを待つ。(ラップ使用)
1 \times TAEバッファー中に入れて, 冷蔵庫で保管する。(1週間程度は可)
使用するときには常温で20分放置する。

(3) 染色液

ミューピッドブルー (Mupid Blue)

(4) その他

今回の実験では, プラスミド, 制限酵素, 分子マーカーについては茨城大農学部遺伝子実験施設のご協力で, 用意していただいたものを使用しました。ご協力ありがとうございました。

6. 問い合わせ先

茨城大学農学部遺伝子実験施設には, この実験を行うために必要な全ての実験器具を貸し出してくれるシステムが完備されております。

茨城大農学部遺伝子実験施設 安西弘行 先生
 茨城大学農学部 <http://www.agr.ibaraki.ac.jp/>
 茨城大学農学部遺伝子実験施設 <http://grc.agr.ibaraki.ac.jp/>