

E-Gel[®] SizeSelect[™] Agarose Gel

カタログ番号 G661002、G6612ST、G6612STEU、G6612STUK
25-1043 バージョン A ; 2008 年 10 月 6 日

QUICK
REFERENCE
CARD

E-Gel[®] SizeSelect[™] 2% プレキャストアガロースゲルは、DNA バンドを精製するための新しい方法です。ゲルは 2 列のウェルを特徴とし、上列はサンプルをアプライするウェル、下列は目的の DNA バンドを回収するためのウェルとなっています。2 列目のすぐ上にある基準線は、DNA 回収の正確なタイミングを定めるために使用します。ゲルには青色光トランスイルミネーター（励起波長 490 nm / 発光波長 522 nm）で可視化できる当社独自の核酸蛍光染色剤が含まれており、1 バンドあたり最低 1.5 ng の DNA を検出可能です。回収した DNA は、追加の精製を行うことなくニックトランスレーションや増幅ステップに使用できることが示されています。以下では E-Gel[®] iBase[™] Power システムを使用して E-Gel[®] SizeSelect[™] を電気泳動する場合に関する注意事項が記載されています。詳細情報および詳細な注意事項については、E-Gel[®] テクニカルガイドをご参照ください。E-Gel[®] テクニカルガイドは www.invitrogen.com より入手いただくか、テクニカルサポートにお問い合わせください。

一般的なガイドライン

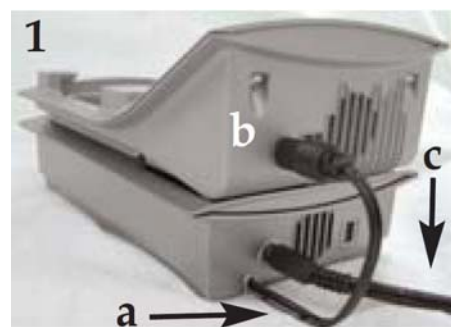
- ゲルは室温で保存してください
- 100~250 ng の DNA マーカーを適量に希釈し、中央のウェルにアプライしてください
- DNA サンプルおよびマーカーは、脱イオン水または 1×TE を使用して調製してください
- バンドのマスキングを避けるため、色素を含むローディングバッファーを使用しないでください
- 塩濃度が高いバッファー中のサンプルは、E-Gel[®] テクニカルガイドの記載に従い 2~20 倍に希釈してからアプライしてください
- サンプル容量を均一に保ち、空のウェルには脱イオン水をアプライしてください
- ゲルを袋から取り出してから 15 分以内にアプライし、サンプルのアプライ後 1 分以内に泳動を行ってください
- DNA の可視化には青色光トランスイルミネーター（例：E-Gel[®] Safe Imager[™]）をご使用ください（マニュアルに記載されている安全に関する注意事項をご参照ください）

サンプル調製

- ウェルあたりのサンプル容量は合計 20~25 μL としてください。サンプル容量が少ないと、バンドが均一に移動しないことがあります。サンプル容量が多いと、ウェル間のコンタミネーションが起こる可能性があります。
- 1 ウェルあたりのサンプル量 700 ng（1 バンドあたり 1.5~300 ng）までで最適な結果が得られます。
- DNA 量が多い場合は、異なる 2 画分で回収してください。

E-Gel® SizeSelect™ Agarose Gel の 1 ステップローディング

1. iBase™を Safe Imager™の上に置き、Safe Imager™の短い電気コード (a) を iBase™の電源コード差込口 (b) に差し込んでください。変圧器付き電源コードのコネクタを Safe Imager™に差し込み (c)、電源コードの反対側をコンセントに差し込んでください。iBase™ファームウェアに「SizeSelect 2%」プログラムが入っていることを確認してください。このプログラムがない場合は、アップグレードのダウンロードをご覧ください。



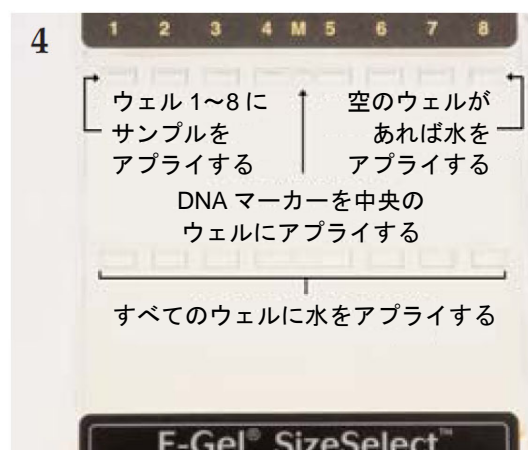
2. 袋からゲルを取り出し、SizeSelect カセットからコームをゆっくり取り外してください。



3. ゲルを右端から E-Gel® iBase™ Power システムに差し込みます。左端をしっかりと押して、ゲルを iBase™に固定してください。カセットを正しく差し込むと、iBase™のライトが点灯します。



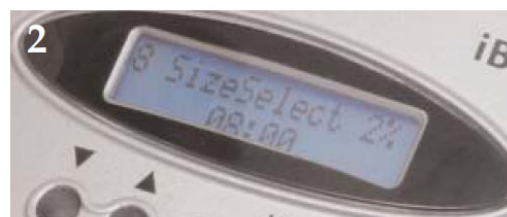
4. プレランを行わずに、以下のようにゲルにアプライします。
 - 上列の各ウェルにサンプル 20~25 μL をアプライ
 - 適切に希釈された DNA マーカー 5~10 μL を中央のウェル (レーン M) にアプライ
 - 空のウェルがあれば脱イオン水 25 μL をアプライ (上列)
 - 下列の大きなウェル (回収ウェル) のすべてに脱イオン水 25 μL 、下列のレーン M に脱イオン水 5~10 μL をアプライ



泳動条件

重要：E-Gel® SizeSelect ゲルはプレランしないでください。

1. E-Gel® iBase™に観察用プレートをセットします。
2. **Run SizeSelect 2%**（プログラム 8）を選択し、泳動時間を**泳動時間の推定の表**に記載されている目的のバンドのサイズに対応する**基準線に到達するまでの泳動時間**に設定します。iBase™の**Go** ボタンを押して電気泳動を開始すると、LEDが赤色から緑色に変化します。
3. 目的のバンドが基準線に到達するまで泳動します。泳動を定期的にモニターし、バンドが基準線に到達すれば**Go** ボタンを押して泳動を停止します。ステップ 5に進んでください。
4. 泳動が終了すると、赤色 LED の点滅と警告音によって知らせます。バンドが基準線に到達していなければ、バンドが基準線に到達するまでさらに泳動してください。
5. バンドが基準線に到達したら、回収ウェルに滅菌水をアプライして 25 μL とします。アプライする滅菌水の容量はウェルごとに異なります。**オーバーロードしないでください。**
6. **泳動時間の推定の表**に記載されている目的のバンドに対応する**基準線から回収ウェルに到達するまでの泳動時間**に従い、該当する時間を入力してください。**Go** ボタンを押して泳動します。泳動を慎重にモニターしてください。泳動が終了すると、目的のバンドは回収ウェル内に移動しています。



泳動条件（続き）

7. ピペットを使用して、ウェルの底にピペットで穴を開けないようにウェルから DNA を回収します。回収した DNA は次のアプリケーションに進んでください。目的のバンドが回収ウェルを通過した場合には、「Reverse E-Gel」プログラムを使用してバンドを逆方向に泳動し、回収ウェル内に戻します。注意事項については、E-Gel®テクニカルガイドをご参照ください。



8. 同じウェルから別の DNA バンドも回収できます。泳動中に回収ウェル内の水が減少するため、回収ウェルに水を追加でアプライしてください。
9. 使用済みのゲルは有害廃棄物として処分してください。

可視化とイメージング

- SizeSelect™ゲルは E-Gel® Safe Imager™または他の青色光トランスイルミネーターで観察してください
- 必ず、観察用褐色プレートまたは観察用褐色メガネを使用してください
- レーザースキャナを使用する場合は、当社独自の色素にシステムの励起源が対応していることを確認してください
- CCD カメラを使用してゲル写真を撮影するには、SYBR® Safe® Filter (S37100) や Molecular Probes® SYPRO® Filter (S6656) などの写真用フィルタが必要です
- 使用に最適なフィルタセットを決定するには **E-Gel®テクニカルガイド**をご参照いただくか、装置のメーカーにお問い合わせください

定量

- SizeSelect™ゲルから回収した次世代シーケンシング用ライブラリを正確に定量するためには、qPCR の実施が推奨されます。
- 回収した DNA のサイズと量はゲル電気泳動によって評価できます。
- 回収した DNA を分光光度計または蛍光計により定量する前に、バッファー交換が必要となる場合もあります。
- 詳細については **E-Gel®テクニカルガイド**をご参照いただくか、テクニカルサポートにお問い合わせください。

泳動時間の推定

目的の DNA フラグメントが基準線に到達するまでの泳動時間および基準線から回収ウェルに到達するまでの泳動時間を推定するには、以下の泳動時間の表をご参照ください。ゲルの電気泳動中は必ずゲルをモニターしてください。DNA の量が少ない場合には、バンドが見えないこともあります。暗室でゲルを観察することによりバンドの見え方が改善されることがあります。Invitrogen の 50 bp Ladder (カタログ番号 10416-014) をサイズ標準マーカーとして泳動することも可能です。目的のバンドのサイズをまたぐ 50 bp Ladder の 2 つのバンドがマーカーレーンの回収ウェルにちょうど入り始めるとき (大きい方のマーカー) と出始めるとき (小さい方のマーカー) に目的のバンドを回収してください。

バンドのサイズ	基準線に到達するまでの泳動時間	基準線から回収ウェルに到達するまでの泳動時間
50 bp	8.5~10 min	0.5~1 min
100 bp	9~10.5 min	0.5~1 min
150 bp	10~11.5 min	0.5~1 min
200 bp	11~12.5 min	0.5~1.5 min
300 bp	12~14 min	0.5~1.5 min
400 bp	13~15 min	0.5~1.5 min
500 bp	14.5~16.5 min	0.5~1.5 min
650 bp	16~18 min	1~1.5 min
800 bp	17.5~19.5 min	1~2 min
1000 bp	18.5~20.5 min	1~2 min

注意：記載されている泳動時間は推定値です。DNA フラグメントのサイズ、DNA の量や塩濃度が移動度にわずかな影響を及ぼす可能性があるため、ウェル間で一部のバンドの移動度が異なることがあります。

アップグレードのダウンロード

ご利用されている E-Gel[®] iBase[™] Power システムのファームウェアが「Run SizeSelect 2%」プログラムを含まない古いバージョンの場合は、新しいバージョンの iBase[™] ファームウェアを www.invitrogen.com/ibase よりダウンロードしてください。サイトに記載されている指示に従って装置をアップグレードしてください。
