

ローディングバッファー

DNA電気泳動において、ゲルローディングバッファーの使用には3つの目的があります。

- サンプル密度を増やす：これによってDNAがウェルに均等に沈みます。
- サンプルを染色する：ゲルへの添加作業が簡単になります。
- 移動染色する：染料は予想可能な速度で電界中を陽極に向かって移動します。これによって、電気泳動プロセスのモニターできます。

ローディングバッファーの種類

アガロースゲル電気泳動においては、少なくとも5種類のローディングバッファーが使用されています。これらは6倍濃縮溶液として調製されています。必要に応じて10X溶液も調製できます。アルカリゲル電気泳動を行う場合、アルカリローディングバッファーを使用します。

Loading Buffer	6X recipe	Storage Temperature
Sucrose-based	40% (w/v) Sucrose 0.25% Bromophenol Blue 0.25% Xylene cyanol FF	4°C
Glycerol-based	30% Glycerol in distilled water 0.25% Bromophenol Blue 0.25% Xylene cyanol FF	4°C
Ficoll®-based	15% Ficoll® (Type 400) Polymer in distilled water 0.25% Bromophenol Blue 0.25% Xylene cyanol FF	room temperature
Alkaline	300 mM NaOH 6 mM EDTA 18% Ficoll® (Type 400) Polymer in distilled water 0.15% Bromocresol Green 0.25% Xylene cyanol FF	4°C

Ficoll®ベースのローディングバッファー

DNAバンドを明瞭にするには、グリセロールの代わりに、沈殿試薬としてFicoll® (タイプ400) ポリマーを使用します。低分子量のグリセロールを使用するとDNAが速やかにウェルを上昇できるようになり、電気泳動後にU字型のバンドができるのを防ぐことができます。TBEゲル内で、グリセロールはホウ酸塩と相互作用し、部分的にpHを変化させる場合があります。

サンプルの準備

イオン強度の強すぎるローディングバッファーを使用すると、バンドがぼやけ、ゲル内の移動速度を予測できません。泳動緩衝液と同じ溶液内でDNAサンプルを再懸濁させるのが理想的です。これができない場合は、泳動緩衝液よりも弱いイオン強度のローディングバッファーを使用してください。