

エチジウムブロマイドによるDNAの検出

エチジウムブロマイドは蛍光染料であり、一本鎖または二本鎖DNAを検出します。しかし、一本鎖DNAに対する親和性は、二本鎖DNAと比べて比較的低くなっています。エチジウムブロマイドで染色したDNAは、紫外線放射で検出されます。254 nmにおいて、紫外線はDNAに吸収されて染料に到達します。302 nmおよび366 nmでは、紫外線は結合した染料そのものに吸収されます。いずれの場合も、可視スペクトルの赤橙色領域の590 nmにおいてエネルギーが再放出されます。

手順

最適な分解能、最も明瞭なバンド、最も小さなバックグラウンドを得るには、電気泳動後にエチジウムブロマイドでゲルを染色します。分解能は若干低下するものの、エチジウムブロマイドはゲルと電気泳動緩衝液（0.5 µg/ml）に混ぜて使うことも可能です。電気泳動におけるDNAの移動度は約15%低下します。

以下の手順に従って、電気泳動後のDNA染色を行ってください。

電気泳動

- 十分な量のエチジウムブロマイド溶液を用意します。（蒸留水またはゲル緩衝液中のエチジウムブロマイド0.5~1 µg/ml）
- 電気泳動チャンバーからゲルを取り出します。
- エチジウムブロマイド溶液にゲルを20分間沈めます。
- 溶液からゲルを取り出します。
- 蒸留水を満たした新しい容器にゲルを20分間沈めます。
- 蒸留水を換えて繰り返します。
- 携帯型または卓上型紫外線照射器を使ってゲルを観察できます。ゲル濃度が4%以上の場合、これらの時間は2倍にする必要があるかもしれません。バックグラウンドが脱染後もまだ発色している場合は、脱染を続けてください。

■ 材料

- ゲルよりも大きい染色容器
- UVトランスイルミネーター
- 磁気攪拌プレート
- スターラーバー

■ 試薬

- エチジウムブロマイドストック溶液（10 mg/ml）
- 電気泳動緩衝液または蒸留水

▲ 注意：ここで示されている器具や材料は、使用者や環境に害をもたらす可能性があります。これらの手順を開始する前に、420ページの安全情報を参照してください。

アガロースゲルにエチジウムブロマイドを添加する場合は以下の手順に従ってください。

- アガロース溶液を調製します（406 - 408ページ参照）。
- アガロース溶液を冷やしている間にエチジウムブロマイドを最終濃度0.1~0.5 µg/mlで溶液に加えます。
- 溶液を静かに渦動させます。
- ゲルをキャストイングトレイに流し入れます。
- 泳動緩衝液にエチジウムブロマイドを0.5 µg/mlの最終濃度で追加します。
- ゲルを移します。（409ページ参照）
- ゲルを蒸留水に20分間沈めて脱染します。
- 新しい蒸留水で繰り返します。
- 電気泳動中、またはその後に携帯型または卓上型紫外線照射器を使ってゲルを観察できます。

エチジウムブロマイド溶液の汚染を除去します。

エチジウムブロマイド溶液の汚染除去はSambrook *et. al.*, pp. 6.16 – 6.17（1989年）で説明されています。エチジウムブロマイドの汚染除去と処理については、地方公共団体のガイドラインと規制に従ってください。