

ヒト全血からのゲノムDNA抽出

Extraction of genomic DNA from whole blood

ヒト全血から簡便、迅速に高純度のゲノムDNAを抽出します。

● **簡単操作**

前処理不要。サンプルのアプライだけで自動的にゲノムDNAを回収します。

● **ユーザーフレンドリー**

遠心分離や有害な有機溶剤が不要です。タンパク質やカオトロピック塩を含まず、高純度のDNAが得られます。

● **高速処理**

最大8サンプルの処理が可能です。抽出から測定まで約25～45分。

● **濃度・純度測定**

吸光度計内臓で核酸の濃度・純度を同時に測定します。(260, 280, 320nm)

プロトコール

サンプルアプライ

↓ サンプルの溶解・・・・・・・・・・・・（溶解・吸着液）

↓ Genomic DNA吸着・・・・・・・・・・・・（磁性ビーズ）

B/F分離

↓ 非特異的吸着物の除去・・・・・・・・・・・・（洗浄液1）

B/F分離

↓ タンパク質変性剤の除去・・・・・・・・・・・・（洗浄液2）

B/F分離

↓ DNAを磁性ビーズから溶出・・・・・・・・・・・・（溶出液・滅菌水）

B/F分離

↓ 磁性ビーズを除去

↓ ゲノムDNA回収（100μl）

↓ 吸光度測定による濃度及び純度の算出

操作は自動で行います

プレパック内容物

試薬類は全てプレパックになっています。

プレパック試薬には

①に溶解・吸着液（タンパク質変性剤含有）

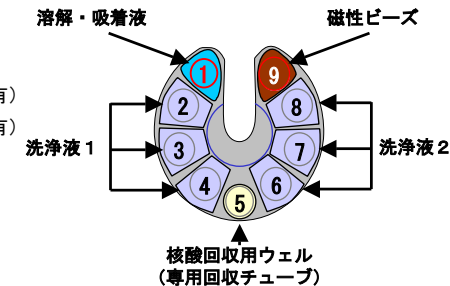
②③④に洗浄液1（タンパク質変性剤含有）

⑥⑦⑧に洗浄液2（エタノール含有）

⑨に磁性ビーズが充填されています。

⑤には回収チューブを装着します。

出荷時には何も入っていません。



ヒト全血からのゲノムDNA抽出の実施例

サ ン プ ル	全血
対応サンプル量	50μl以下
使用キット	MagGenex Genomic DNA用キット
前 処 理	不要
プ ロ ト コ ー ル	Genomic DNA Extract program (本体に標準インストール)

—目的—

MagGenex PNE-1080及びMagGenex Genomic DNA抽出用キットを利用してヒト全血からゲノムDNAを抽出し、収量と純度を吸光度計により測定することを試みます。また、抽出したゲノムDNAの一部をテンプレートとしてPCR反応を行い、標的遺伝子の増幅が可能であることを確認します。

—方法—

ヘパリンで抗凝固処理された新鮮な全血50μlをサンプルとして用いました。血液5, 10, 20μlをプレパックの①番に分注、懸濁しました。

—結果—

1. 吸光度測定の結果と算出した濃度及び純度

A 260	0.18 ~ 0.30
A 280	0.10 ~ 0.20
A 320	0.02 ~ 0.09
濃度 (μg/ml)	8.0 ~ 10.0
純度 (A ₂₆₀ -A ₃₂₀)/(A ₂₈₀ -A ₃₂₀)	1.80 ~ 2.00

2. PCR反応

国内T社のPCRキットを用いて、GC richな領域の増幅を行いました。

テンプレート : 全血50 μlから抽出したDNA溶液

ターゲット : ヒトDNA, GC rich領域(1225 bp)

酵素 : T社 LA Taq DNA polymerase (2.5U)

プライマー : 各0.2 μM

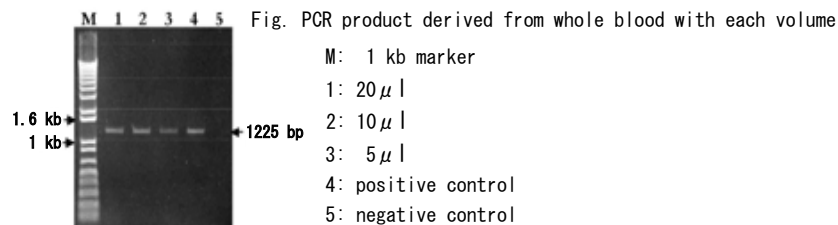
dNTPs : 各400 μM

反応液量 : 各50 μl

温度サイクル : 94°C, 1min. → (94°C, 30sec. → 60°C, 30sec. → 72°C, 2min.) × 30cycle →
72°C, 5min.

—電気泳動結果—


反応液の1/10量(5 μl)をアガロースゲル電気泳動により確認しました。



—考察—

MagGenex PNE-1080を用いることで特殊な前処理を必要とせずに、高純度なゲノムDNAの抽出が可能であることが確認されました。また、PCR反応によりターゲットの特異的な増幅が確認されたことから、抽出されたゲノムDNAはテンプレートとして適していると考えられます。

株式会社マルコム

 コスモ・バイオ株式会社