

大腸菌からのゲノムDNA抽出

Extraction of genomic DNA from *E.coli*

大腸菌から簡便、迅速、高純度のDNAを抽出することが可能です。

●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。

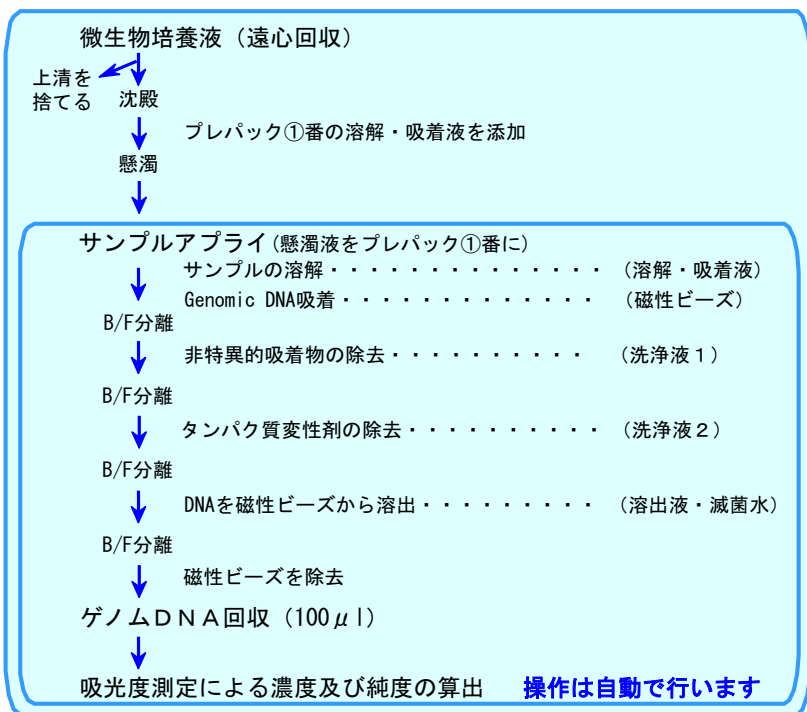
●高速処理

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

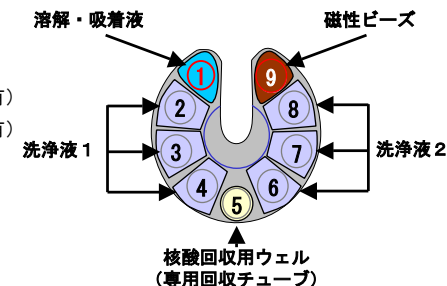


プレパック内容物

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。



大腸菌からのゲノムDNA抽出の実施例

サンプル	大腸菌培養液
対応サンプル量	1×10 ⁷ ~ 10 ⁸ cells
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大腸菌からゲノム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—

リン酸緩衝液で集菌した1×10⁷ ~ 10⁸ cellsの大腸菌(JM109)を1.5mlマイクロチューブに分注し、遠心分離後、上澄を除去しました。その後、プレパック①番に充填されている溶解液を100μl取り出しpelletに加え懸濁させ、全量をプレパック①番に戻しました。

—結果—

1. 吸光度測定の結果と算出した濃度及び純度

A 260	0.40 ~ 0.50
A 280	0.15 ~ 0.20
A 320	0.02 ~ 0.09
濃度 (μg/ml)	14.0 ~ 20.0
純度 (A ₂₆₀ -A ₃₂₀)/(A ₂₈₀ -A ₃₂₀)	1.90 ~ 2.00

2. PCR反応

テンプレート : 大腸菌から抽出したDNA溶液 (2.5 μl)

ターゲット : 大腸菌DNA (20kb)

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 : 50 μl

温度サイクル : 94°C, 1min. → (98°C, 10sec. → 68°C, 15min.) × 30cycle → 72°C, 10min.

—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。

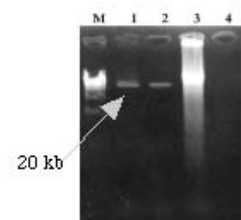


Fig. PCR product derived from *E. coli*

M: 2.5 kb marker

1: *E. coli*

2: *E. coli*

3: positive control

4: negative control

—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