

動物組織からのゲノムDNA抽出

Extraction of genomic DNA from animal tissue

動物組織から簡便、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**

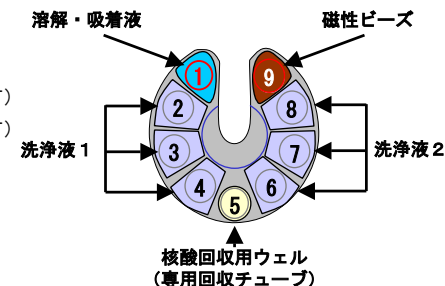
操作は自動で行います

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。



マウス組織からのゲノムDNA抽出の実施例

サ ン プ ル	太もも筋肉
対応サンプル量	組織片を2～5mm程度(ハサミで切る)
使用キ ッ ト	MagGenex Genomic DNA用キット
前 処 理	液体窒素処理サンプルを用いる
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マウスの各組織からゲノム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—

マウスの組織はハサミで2～5mm位になるように細かく切り、液体窒素にて凍結させ、乳鉢で粉碎した粉をサンプルとしました。その粉（30 mg）をプレパックの①番に導入しました。

—結果—

1. 吸光度測定の結果と算出した濃度及び純度

A 260	0.30 ~ 0.40
A 280	0.20 ~ 0.30
A 320	0.10 ~ 0.15
濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	10.0 ~ 13.0
純度 ($A_{260}-A_{320}$) / ($A_{280}-A_{320}$)	1.70 ~ 1.80

2. PCR反応

テンプレート : マウス太もも筋肉から抽出したDNA溶液

ターゲット : TNF gene

酵素 : A社 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, 5min. → (94°C, 30sec. → 60°C, 30sec. → 72°C, 1min.) × 30cycle →
72°C, 15min.

—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。

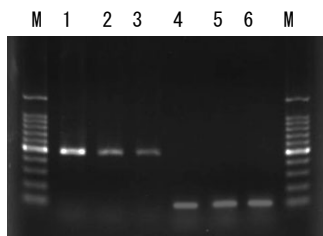


Fig. TNF gene PCR product derived from the leg muscle

M: 100 bp DNA ladder

1~3: TNF gene PCR product (498 bp)

4~6: TNF gene PCR product (102 bp)

1.5 % Agarose gel

—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。

