

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）

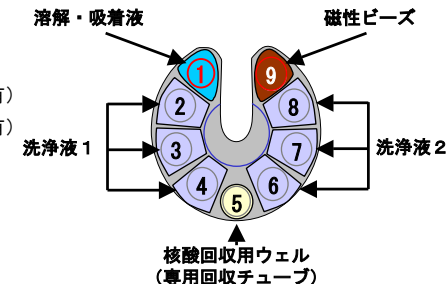
②③④に洗浄液1（タンパク質変性剤含有）

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	内臓脂肪
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	0.20 ~ 0.30
A 280	0.20 ~ 0.30
A 320	0.05 ~ 0.10
濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	5.0 ~ 10.0
純度 ($A_{260}-A_{320}$) / ($A_{280}-A_{320}$)	1.70 ~ 1.90

2. PCR反応

テンプレート：内臓の脂肪から抽出した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 $0.2\mu\text{M}$

dNTPs：各 $400\mu\text{M}$

反応液量： $50\mu\text{l}$

温度サイクル： 94°C , 5min. \rightarrow (94°C , 30sec. \rightarrow 60°C , 30sec. \rightarrow 72°C , 1min.) \times 30cycle \rightarrow 72°C , 15min.

—電気泳動結果—

反応液の1/10量 ($5\mu\text{l}$) をアガロースゲル電気泳動により確認しました。

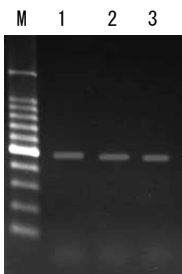


Fig. TNF gene PCR product derived from visceral fat

M: 1kb marker

1~3: TNF gene PCR product (498 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。