

## 酵母からのゲノムDNA抽出

Extraction of genomic DNA from *Saccharomyces cerevisiae*

酵母から簡便、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。

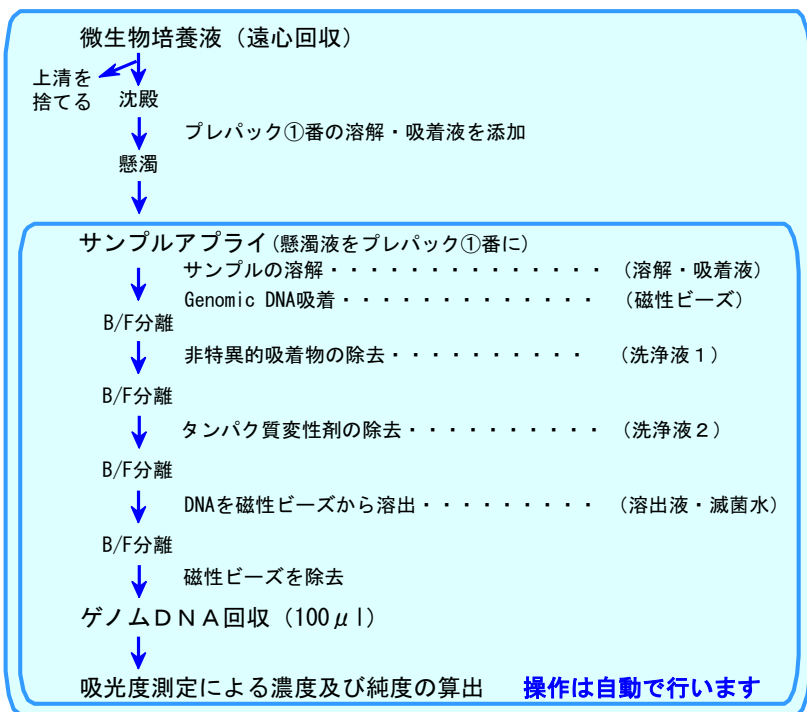
### ●高速処理

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

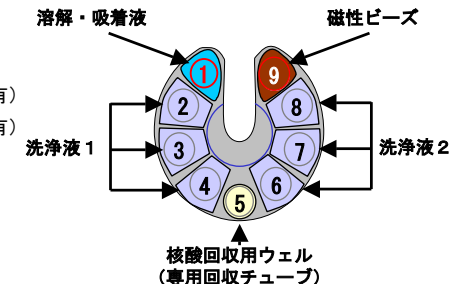


## プレパック内容物

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。



## 酵母からのゲノムDNA抽出の実施例

サンプル	酵母培養液
対応サンプル量	3～40.D.
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酵母からゲノム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3～40.D.の酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)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	0.50 ~ 0.60
A 280	0.30 ~ 0.40
A 320	0.10 ~ 0.20
濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	20.0 ~ 25.0
純度 ( $A_{260}-A_{320}$ ) / ( $A_{280}-A_{320}$ )	1.70 ~ 1.90

## 2. PCR反応

テンプレート : 酵母から抽出したDNA溶液 (2.5  $\mu\text{l}$ )

ターゲット : VPS 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 : 95°C, 5min. → (95°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  $\mu\text{l}$ ) をアガロースゲル電気泳動により確認しました。

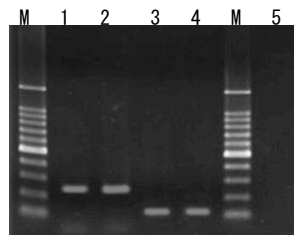


Fig. PCR product derived from *S. cerevisiae*

M: 100 bp DNA ladder

1: VPS gene (244 bp)

2: VPS gene (244 bp)

3: VPS gene (111 bp)

4: VPS gene (111 bp)

5: negative control

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。

株式会社マルコム



コスモ・バイオ株式会社