

## 大腸菌からのプラスミドDNA抽出

Extraction of plasmid DNA from *E.coli*

大腸菌から簡便、迅速、高純度のプラスミドDNAを抽出することが可能です。

### ●簡単操作

簡単な前処理だけで、自動的にプラスミド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、高純度のプラスミド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収量・純度を同時に測定します。(260, 280, 320nm)

## プロトコール

### 集菌した菌体

- ← 150 μl 再懸濁液  
ボルテックスで60秒攪拌
- ← 150 μl 溶解液 (溶解液 I, II を4:1 (v:v) の割合で混合したもの)  
5回チューブを転倒して攪拌  
氷上、5分放置
- ← 120 μl 中和液  
5回チューブを転倒して攪拌  
氷上、5分放置  
12,000rpm, 5分

### サンプルアプライ (上清をプレパック①番に)

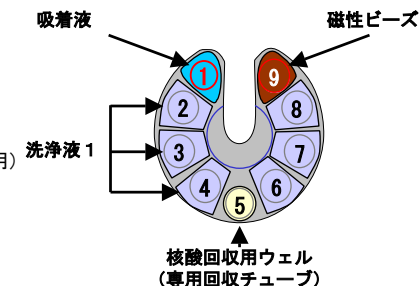
- ↓ サンプルの溶解 (吸着液)
- ↓ Genomic DNA吸着 (磁性ビーズ)
- ↓ B/F分離
- ↓ タンパク質変性剤の除去 (洗浄液)
- ↓ B/F分離
- ↓ DNAを磁性ビーズから溶出 (溶出液)
- ↓ B/F分離
- ↓ 磁性ビーズを除去
- ↓ プラスミドDNA回収 (100 μl)
- ↓ 吸光度測定による収量及び純度の算出 **操作は自動で行います**

## 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に吸着液 (タンパク質変性剤含有)
  - ②③④に洗浄液1 (エタノール含有)
  - ⑥⑦⑧には何も入っていません。(未使用)
  - 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。



## 大腸菌からのプラスミドDNA抽出の実施例

サンプル	大腸菌形質転換培養物
対応サンプル量	5 ~ 9 O.D.
使用キット	MagGenex Plasmid DNA用キット
前処理	集菌及びアルカリ溶菌が必要
プロトコール	Plasmid DNA Extract program (本体に標準インストール)

### —目的—

MagGenex PNE-1080及びMagGenex Plasmid DNA抽出用キットを利用して大腸菌からプラスミド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。

### —方法—

大腸菌JM109/pUC 19及びpBR322形質転換体を前処理した菌体をプレパック①番に戻します。

## —結果—

## 1. 吸光度測定の結果と算出した収量及び純度

収量 ( $\mu\text{g}$ )	4.8 ~ 5.2
純度 ( $A_{260}-A_{320}$ ) / ( $A_{280}-A_{320}$ )	1.90 ~ 2.00

## —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。

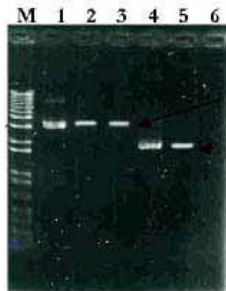


Fig. Electropherogram of plasmid extracted from *E. coli* JM109, 9 O.D.

- 1: pBR322 positive control
- 2: pBR322 extracted from *E. coli*
- 3: pBR322 extracted from *E. coli*
- 4: pUC19 positive control
- 5: pUC19 extracted from *E. coli*
- 6: negative control

## —考察—

アガロースゲル電気泳動結果によりMagGenex PNE-1080を用いることで高純度なプラスミドDNAの抽出が可能であることが確認されました。

株式会社 **マルコム**

 **コスモ・バイオ株式会社**