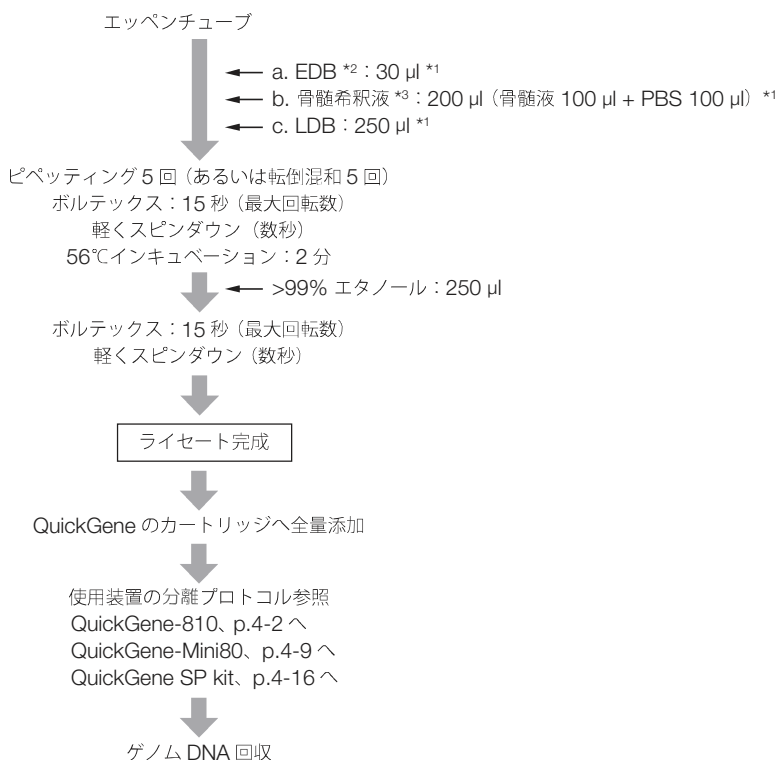


3-II-i 章

動物血液からのゲノム DNA 分離

骨髓液からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 a, b, c の順序に必ず従ってください。

*2 EDB は、ヌクレアーゼフリー水を注入混和後、室温で 30 分静置し、完全に溶解してからお使いください。

*3 骨髓液は、あらかじめ PBS で 2 倍希釈してください。骨髓液 100 μl に PBS 100 μl を加え、よく混合してから添加してください。

結果

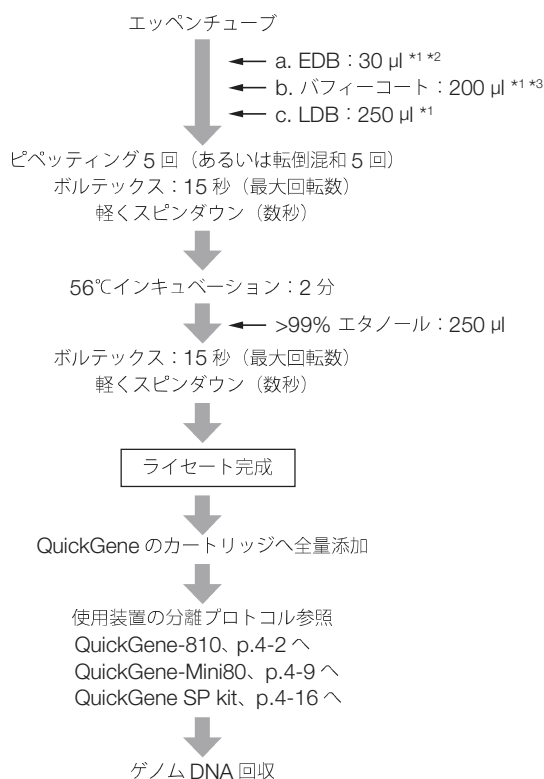
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

バフィーコートからのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 a, b, c の順序に必ず従ってください。

*2 EDB は、ヌクレアーゼフリー水を注入混和後、室温で 30 分静置し、完全に溶解してからお使いください。

*3 3×10^8 個の細胞を PBS/200 μ l に懸濁した。

結果

■ 電気泳動図

データなし

■ ゲノム DNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入 : A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

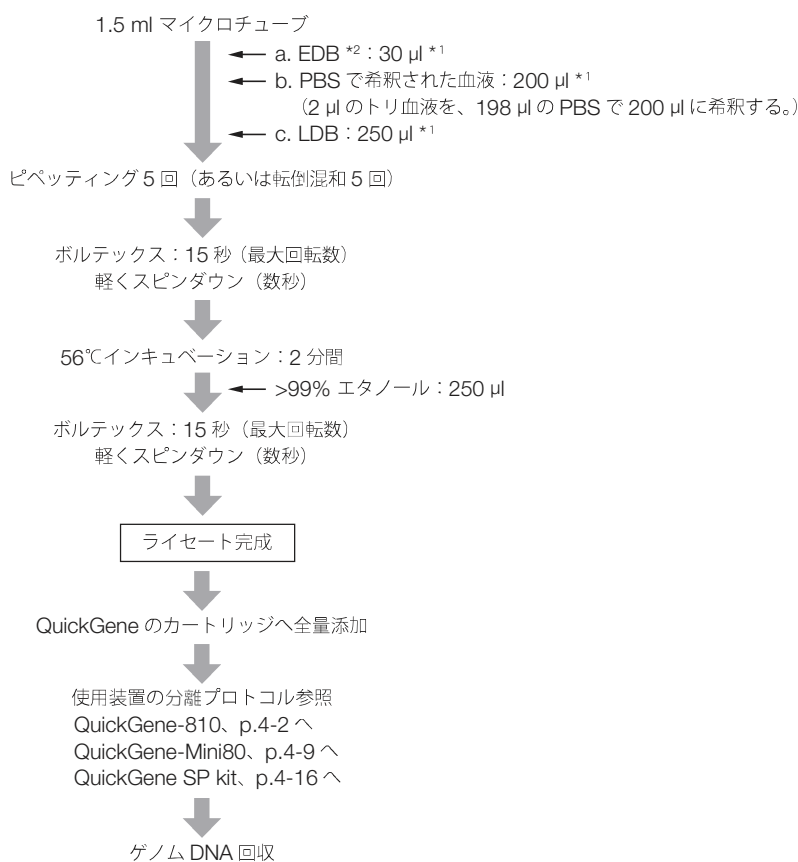
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

トリ全血からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 a, b, c の順序に必ず従ってください。

*2 EDB は、ヌクレアーゼフリー水を添加混和後、室温で 30 分静置し、完全に溶解してからお使いください。

結果

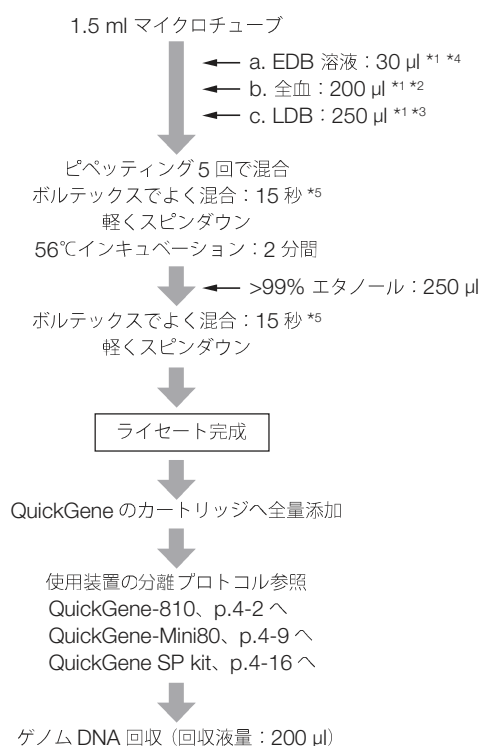
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入 : A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入 : A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ヒト全血からのゲノムDNA分離

プロトコル

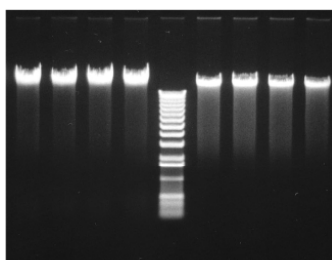


- *1 a, b, c の順序に必ず従ってください。
- *2 EDTA-2Na または EDTA-2K またはヘパリンで採血した全血の使用を推奨。
- *3 全血添加後直ぐに c を行ってください。
- *4 EDB は、ヌクレアーゼフリー水を添加混和後、室温で 30 分静置し、完全に溶解してからお使いください。
- *5 ボルテックス (最大回転数) で完全に混合してください。ボルテックスで混合不十分ならば、タッピング、ピペティングまたは転倒を使用してください。

結果

電気泳動図

1 1 1 1 M 2 2 2 2



M : 1k bp ladder
1 : QuickGene
2 : A社 (スピン法)

ゲノム DNA の収量 (サンプル : 200 μ l のヒト全血)

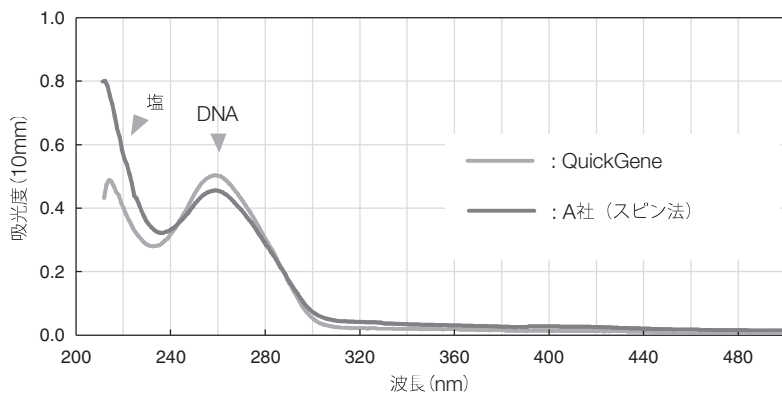
(μ g)	平均	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5
QuickGene	5.9	7.2	5.3	5.9	5.5	5.5
A社 (スピン法)	4.5	6.3	4.4	5.2	3.2	3.6

タンパク質の混入 : A260/280

	平均	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5
QuickGene	1.94	1.91	1.94	1.96	1.91	1.96
A社 (スピン法)	1.84	1.86	1.82	1.80	1.87	1.86

カオトロピック塩の混入 : A260/230

	平均	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5
QuickGene	1.61	1.76	1.69	1.43	1.76	1.42
A社 (スピン法)	1.12	1.21	0.89	1.07	1.24	1.21



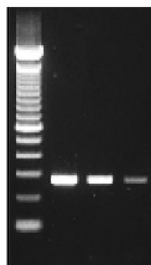
ヘモグロビンの混入：A400

	平均	サンプル 1	サンプル 2	サンプル 3	サンプル 4	サンプル 5
QuickGene	0.036	0.023	0.032	0.070	0.031	0.025
A社 (スピン法)	0.054	0.076	0.040	0.085	0.026	0.043

その他

● PCR

M 1 2 3

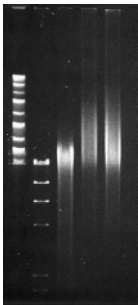


分離ゲノム DNA を連続的に希釈し、各希釈液を PCR テンプレートに用いて *p53* exon6 遺伝子を増幅した。
PCR 増幅は 0.1ng/μl ゲノム DNA を用いて成功した。

M : 100bp ladder
1 : ゲノム DNA 10ng/μl
2 : ゲノム DNA 1ng/μl
3 : ゲノム DNA 0.1ng/μl

● パルスフィールド電気泳動

M1M2 1 2 3

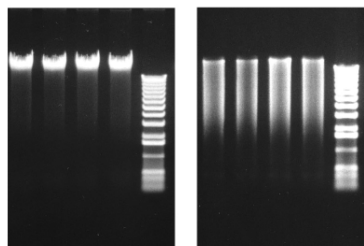


QuickGene-810 (自動核酸分離システム) と QuickGene DNA whole blood kit S を用いることで、フェノール/クロロホルムを用いるマニュアル法と同様に、長いゲノム DNA の分離が出来る。

M1 : MidRange PFG マーカー II
M2 : *Hind* III digest
1 : スピニングカラムを用いる比較法 (< ~ 70kb)
2 : QuickGene 分離システムと試薬使用 (< ~ 140kb)
3 : フェノール/クロロホルムを用いるマニュアル法 (< ~ 140kb)

● 制限酵素切断

1 1 1 1 M 2 2 2 2 M



溶出されたゲノム DNA サンプルを、*EcoR* I を用いて切断した。
酵素切断の成功がレーン 1 と 2 の比較で示される。

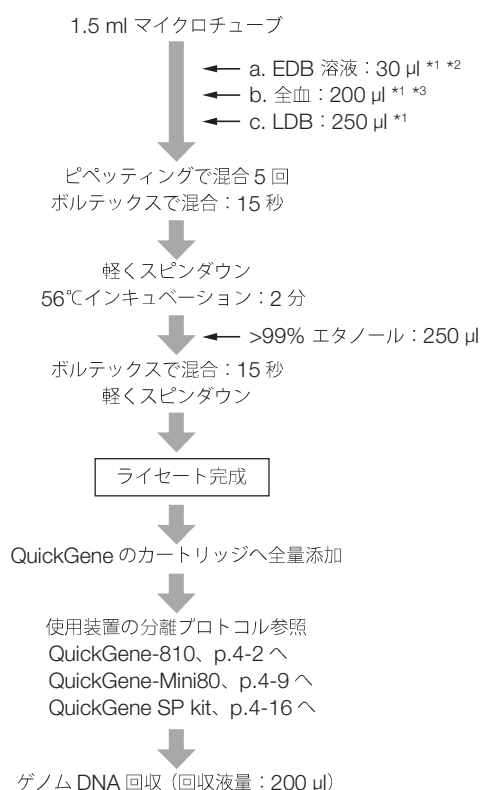
M : 1k bp ladder
1 : 切断前
2 : *EcoR* I を用いる切断後

共通プロトコルサンプル

イヌ全血

イヌ全血からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 a から c の順を厳密に。
LDB を EDB 添加直後に加えない
てください。

*2 EDB は、ヌクレアーゼフリー水
を添加混和後、室温で 30 分静置
し、完全に溶解してからお使いい
ください。

*3 フィブリンが多く含まれているた
め、新鮮血でも凝固する場合があ
ります。
全血が凝固してしまった場合は、
抗凝固剤を使用して、再度採血を
行ってください。

結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

全血量	収量 (μ g)
200 μ l	2.52

タンパク質の混入：A260/280

全血量	A260/280
200 μ l	1.68

カオトロピック塩の混入：A260/230

全血量	A260/230
200 μ l	0.61

その他

データなし

共通プロトコルサンプル

ヒト全血

