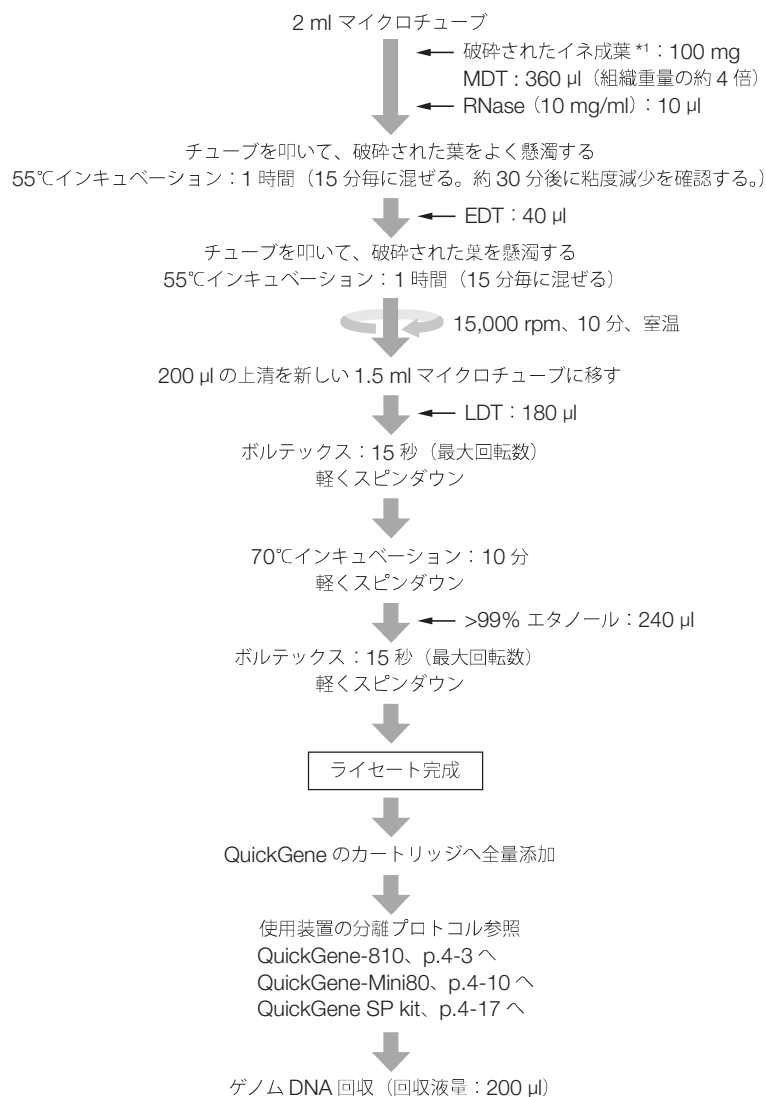


3-III 章

植物組織からのゲノム DNA 分離

イネ成葉からのゲノムDNA分離

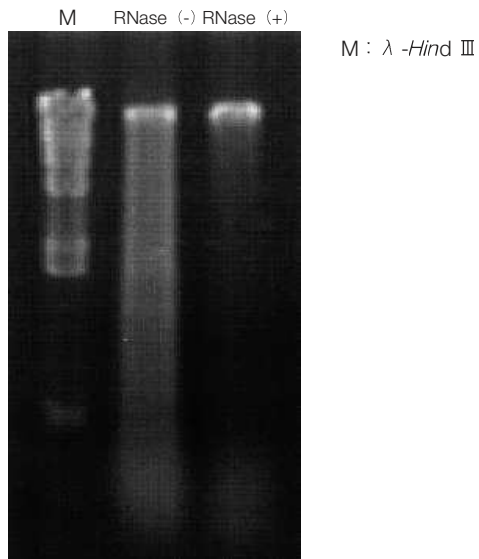
プロトコル



*1 マルチピースショッカー
(安井機械 (株)) を破碎に使用。

結果

電気泳動図



ゲノム DNA の収量

	収量 (μg)
RNase (+)	10
RNase (-)	36

タンパク質の混入：A260/280

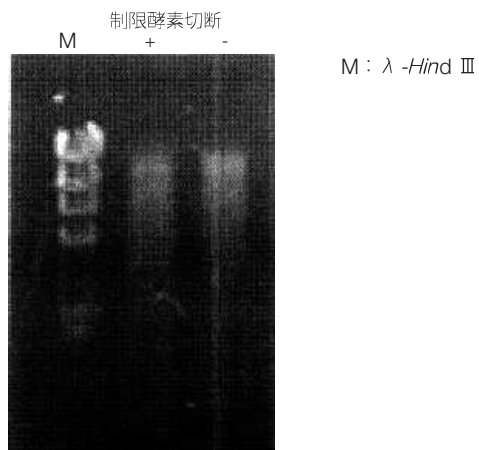
データなし

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

制限酵素切断



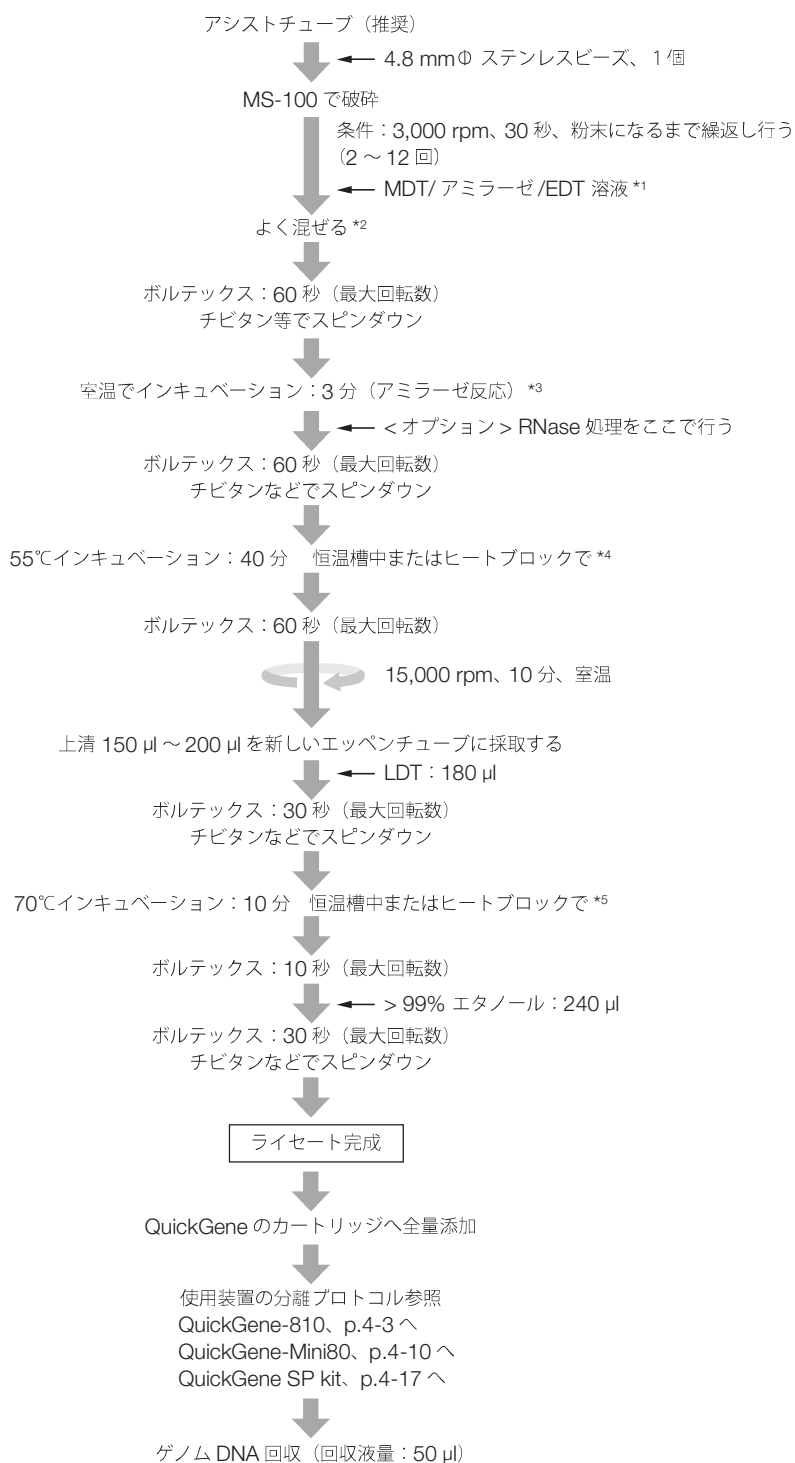
(データ提供：福井県立大学 生物資源学部 岩崎行玄 先生、藤澤由起子 先生)

共通プロトコルサンプル

データなし

アマランサス種子からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 SIGMA A-3403
1 サンプルにつき
α アミラーゼ * 1 µl
EDT (ProK) 20 µl
MDT 180 µl
アミラーゼを入れると収量が 10 倍近く上がるが、PCR 実験は未確認のため、PCR がかからなければ操作を削除。

*2 ビーズがはまり込んで動かない時には、チューブを逆さまにして机上で 1 回叩く。
ビーズを壁内をまんべんなく混ぜるようにチューブを振りながら回転させ、ムラをなくす。
初めはもちもちだが、水に溶かした小麦粉状になる。

*3 ProK はこの温度では働かないが、アミラーゼが働く。

*4 ProK によるタンパク質分解過程。

*5 アミラーゼを使用しているため、より強力にタンパク質を壊すため。
* PCR のかかりが悪いなど、トラブルがある場合は操作を削除。

結果

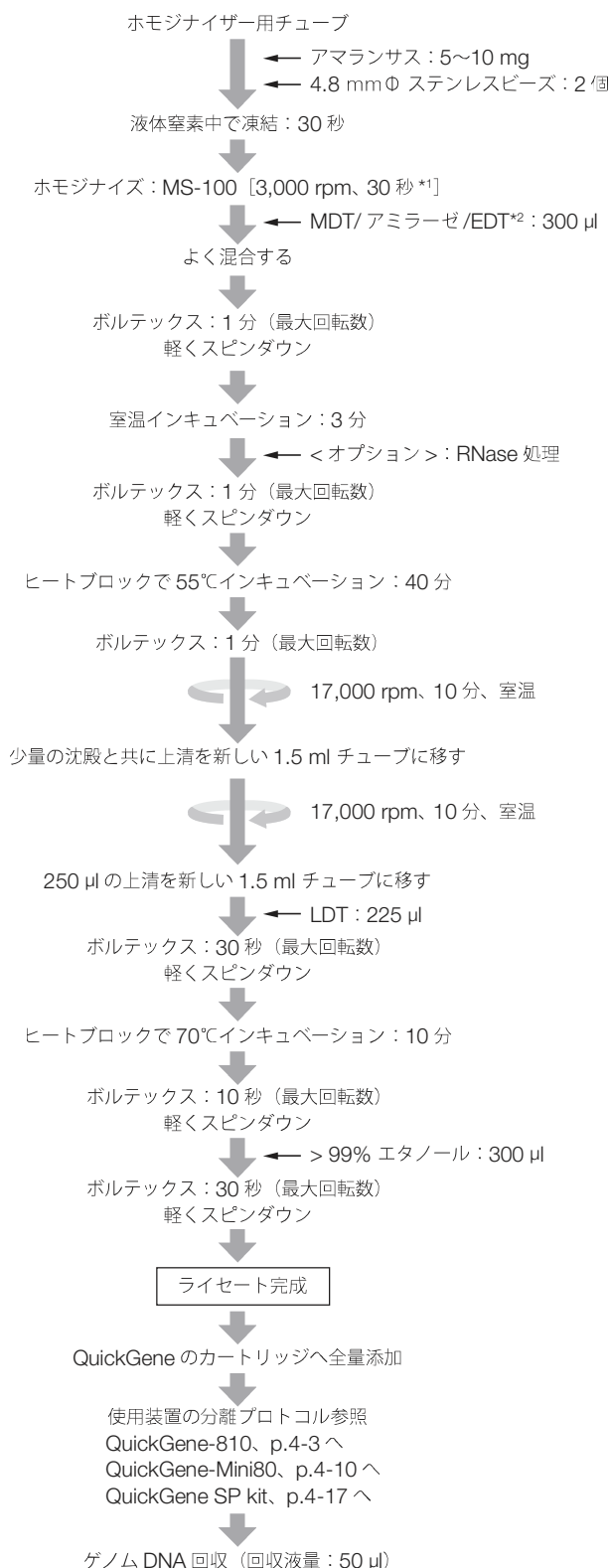
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入：A260/280
データなし
- グアニジウム塩（カオトロピック塩）の混入：A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

アマランサスからのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 ホモジナイズで粉末状になる。

*2 1 サンプルにつき
αアミラーゼ*...1.5 μl
EDT (ProK) ...30 μl
MDT270 μl

*SIGMA A-3403

このプロセスで、アミラーゼは反応するが、ProK は反応しない。

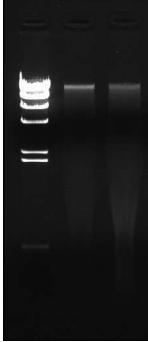
このプロセスで、ProK が反応する。

トラブル(PCR 反応が不良)の場合は、このプロセスは削除。

結果

電気泳動図

M 1 2



1 : 5 mg アマランサス
2 : 10 mg アマランサス
M : λ -Hind III マーカー

1% アガロース
EtBr 染色
100V
30分
RNase 処理

検出機 : LAS-3000 (富士フイルム)

ゲノム DNA の収量

サンプルは検出限界以下。

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

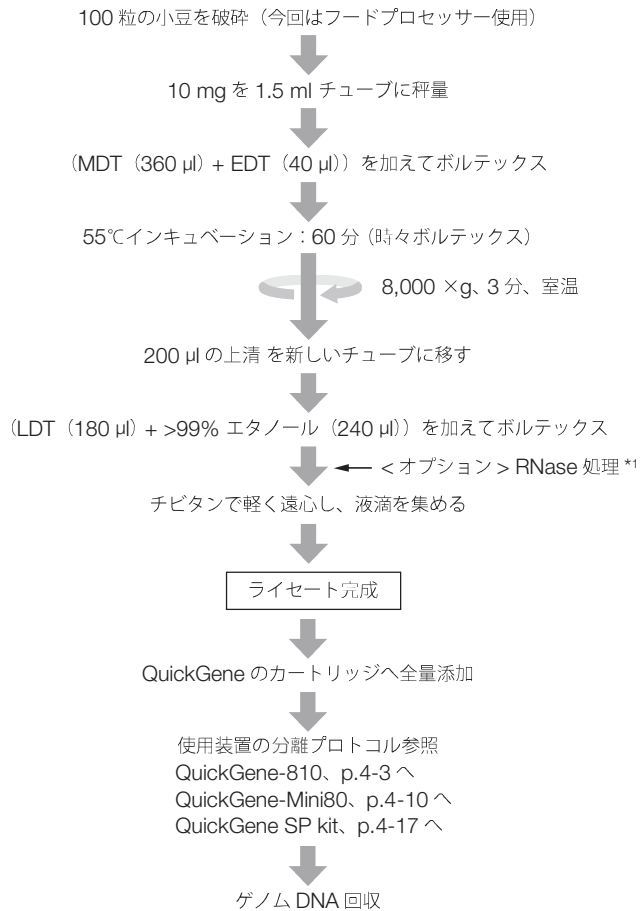
データなし

共通プロトコルサンプル

レタス

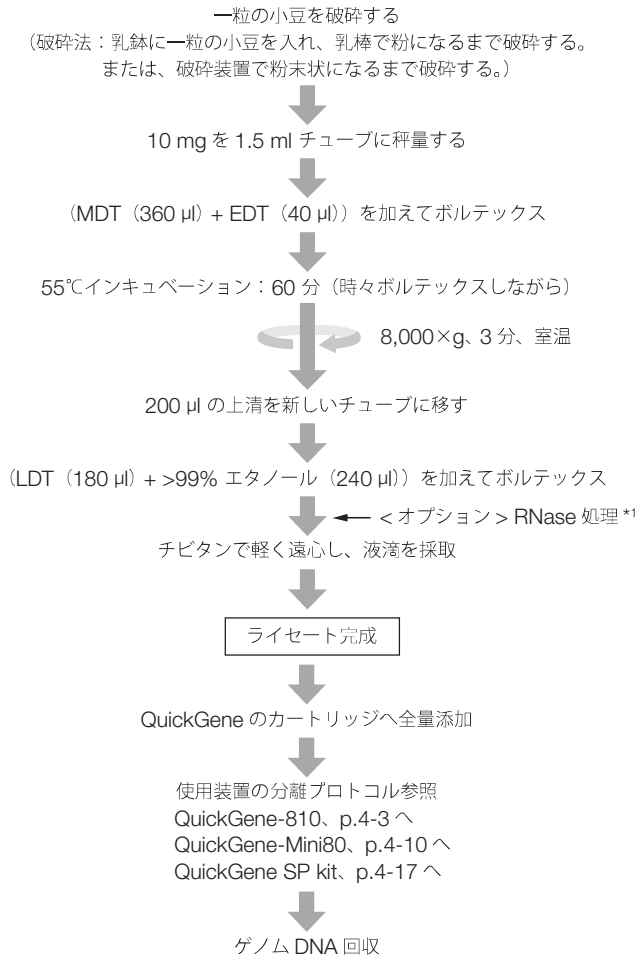
小豆からのゲノムDNA分離

プロトコル 1



*1 20 μl の 100 mg/ml
RNase A を添加。
タッピングし軽くスピンドウン
室温で 2 分間反応。

プロトコル 2



*1 20 μ l の 100 mg/ml RNase A を加える。
タッピングし、軽くスピンドウン。
室温で反応 2 分間。

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

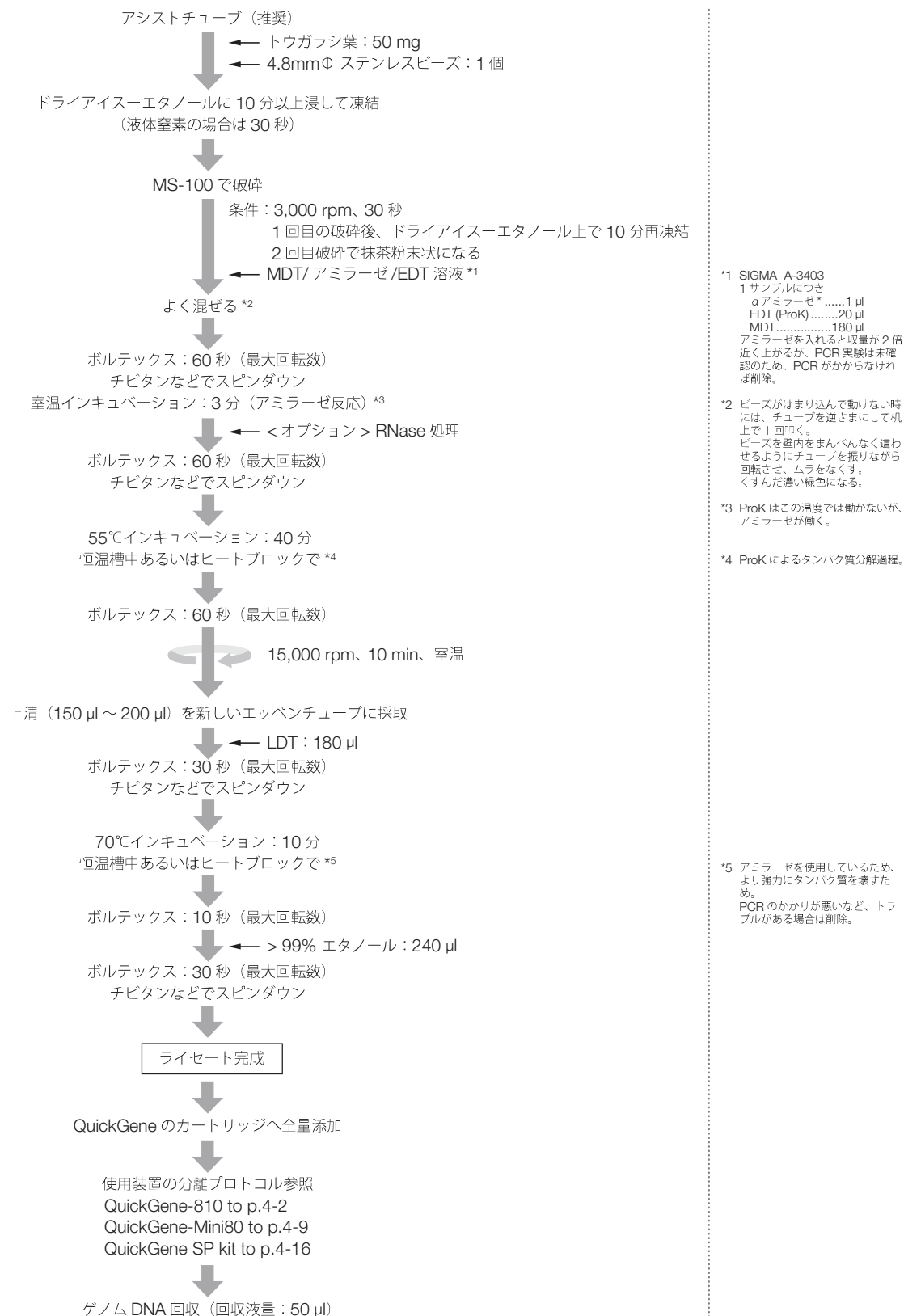
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

トウガラシ葉からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 SIGMA A-3403
1 サンプルにつき
αアミラーゼ*1 μl
EDT (ProK)20 μl
MDT180 μl
アミラーゼを入れると収量が 2 倍近く上がるが、PCR 実験は未確認のため、PCR がかからなければ削除。

*2 ビーズがはまり込んで動かない時には、チューブを逆さまにして机上で 1 回叩く。
ビーズを壁内をまんべんなく混ぜるようにチューブを振りながら回転させ、ムラをなくす。
くずんだ濃い緑色になる。

*3 ProK はこの温度では働かないが、アミラーゼが働く。

*4 ProK によるタンパク質分解過程。

*5 アミラーゼを使用しているため、より強力にタンパク質を壊すため。
PCR のかかりが悪いなど、トラブルがある場合は削除。

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

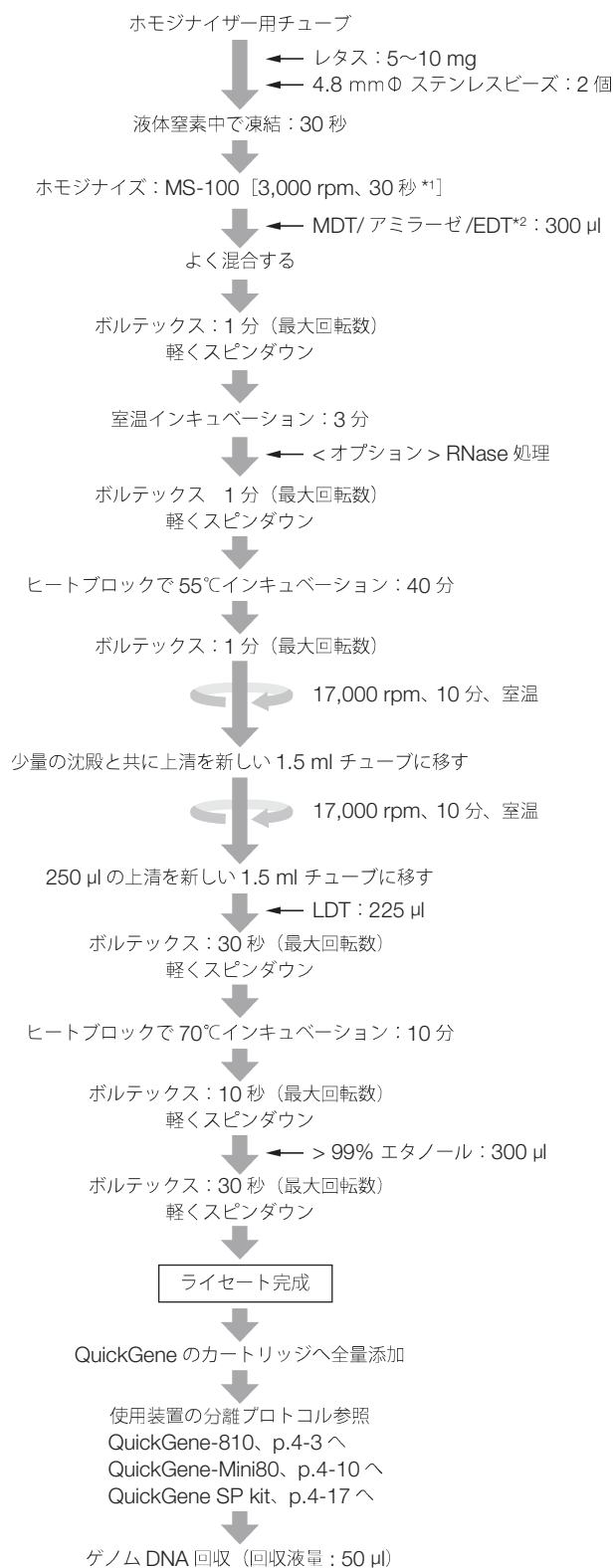
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

レタスからのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 ホモジナイズで粉末状になる。

*2 1 サンプルにつき
αアミラーゼ*... 1.5 µl
EDT (ProK) 30 µl
MDT 270 µl

*SIGMA A-3403

このプロセスで、アミラーゼは反応するが、ProK は反応しない。

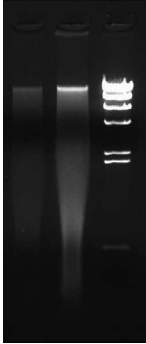
ProK は、このプロセスで反応する。

トラブルの場合 (PCR 反応が不良) このプロセスは削除。

結果

電気泳動図

1 2 M



1 : 5 mg レタス
2 : 10 mg レタス
M : λ -Hind III マーカー

1% アガロース
EtBr 染色
100V
30分
RNase 処理

検出機 : LAS-3000 (富士フイルム)

ゲノム DNA の収量

レタスの量	
10 mg	1.2 μ g

他のサンプルは検出限界以下。

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

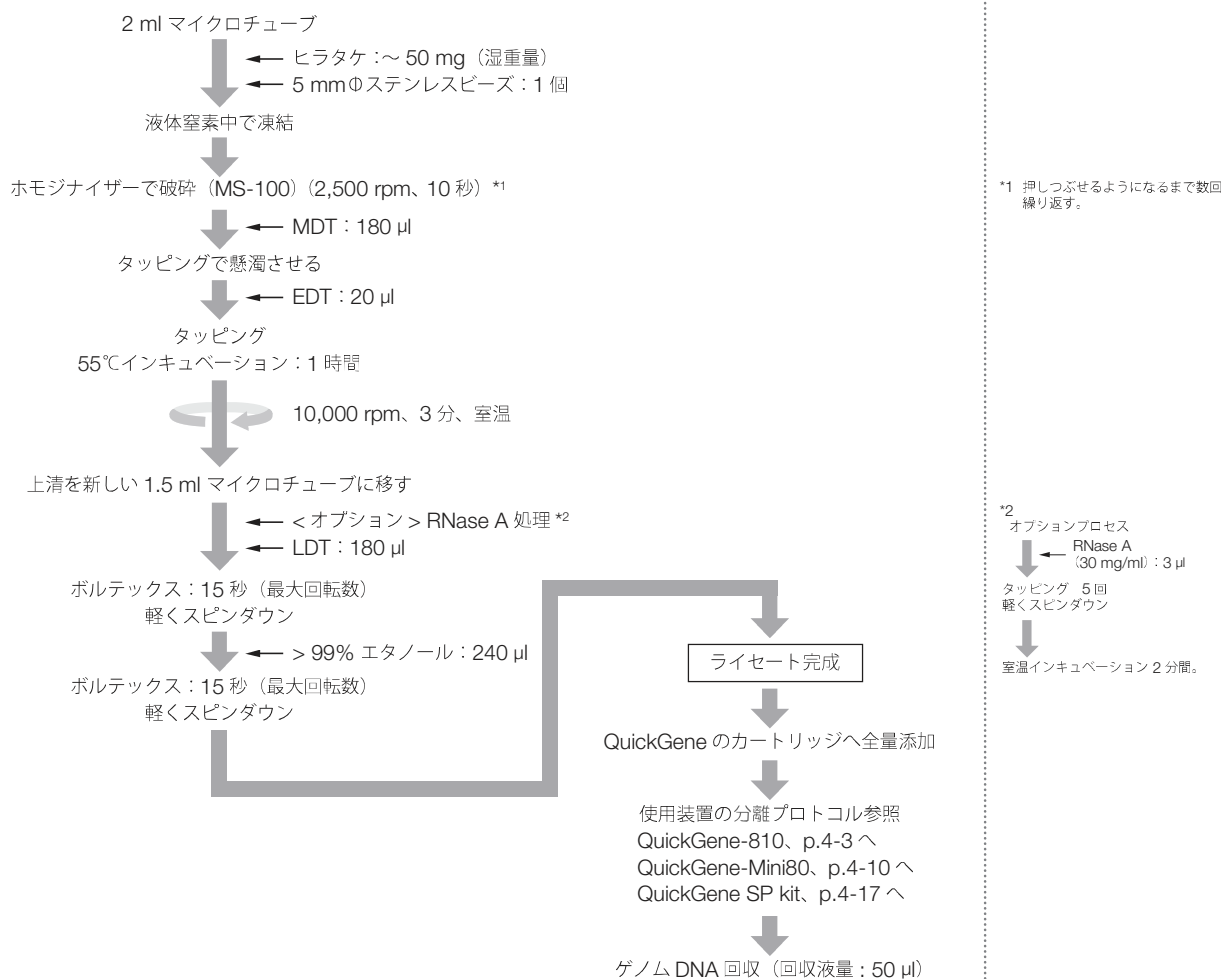
データなし

共通プロトコルサンプル

アマランサス

ヒラタケからのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

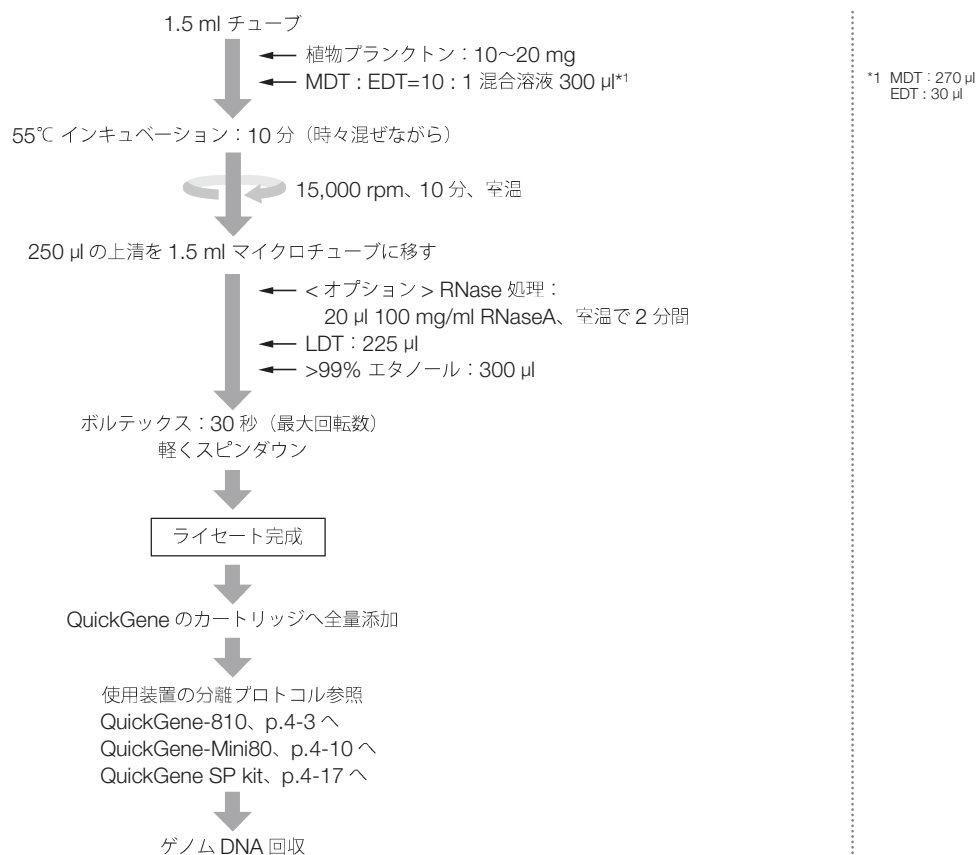
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入：A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入：A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

植物ブラントンからのゲノムDNA分離

プロトコル



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

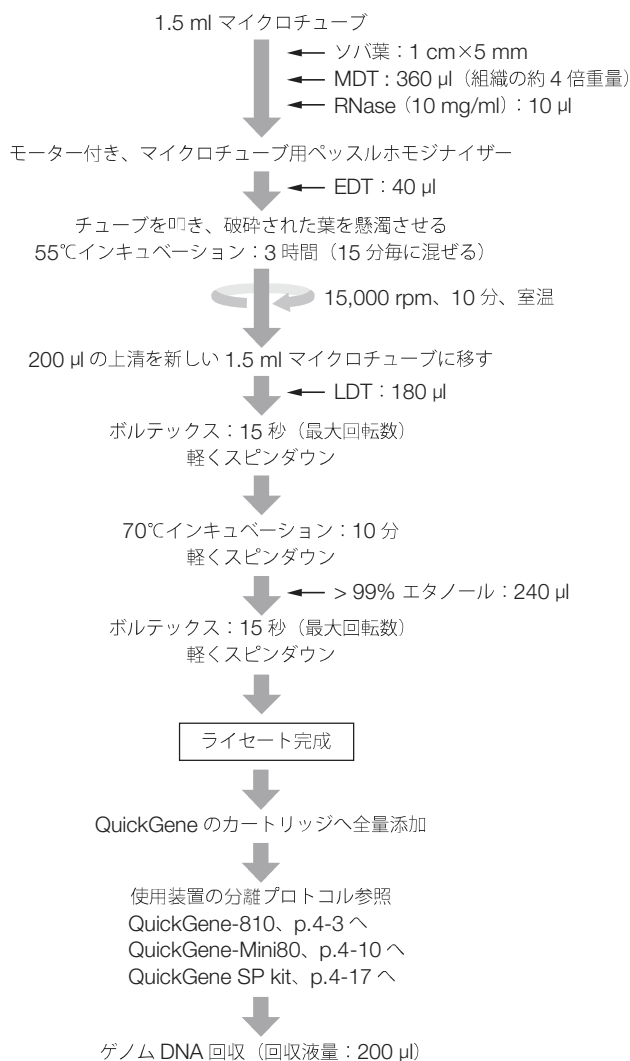
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ソバ葉からのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

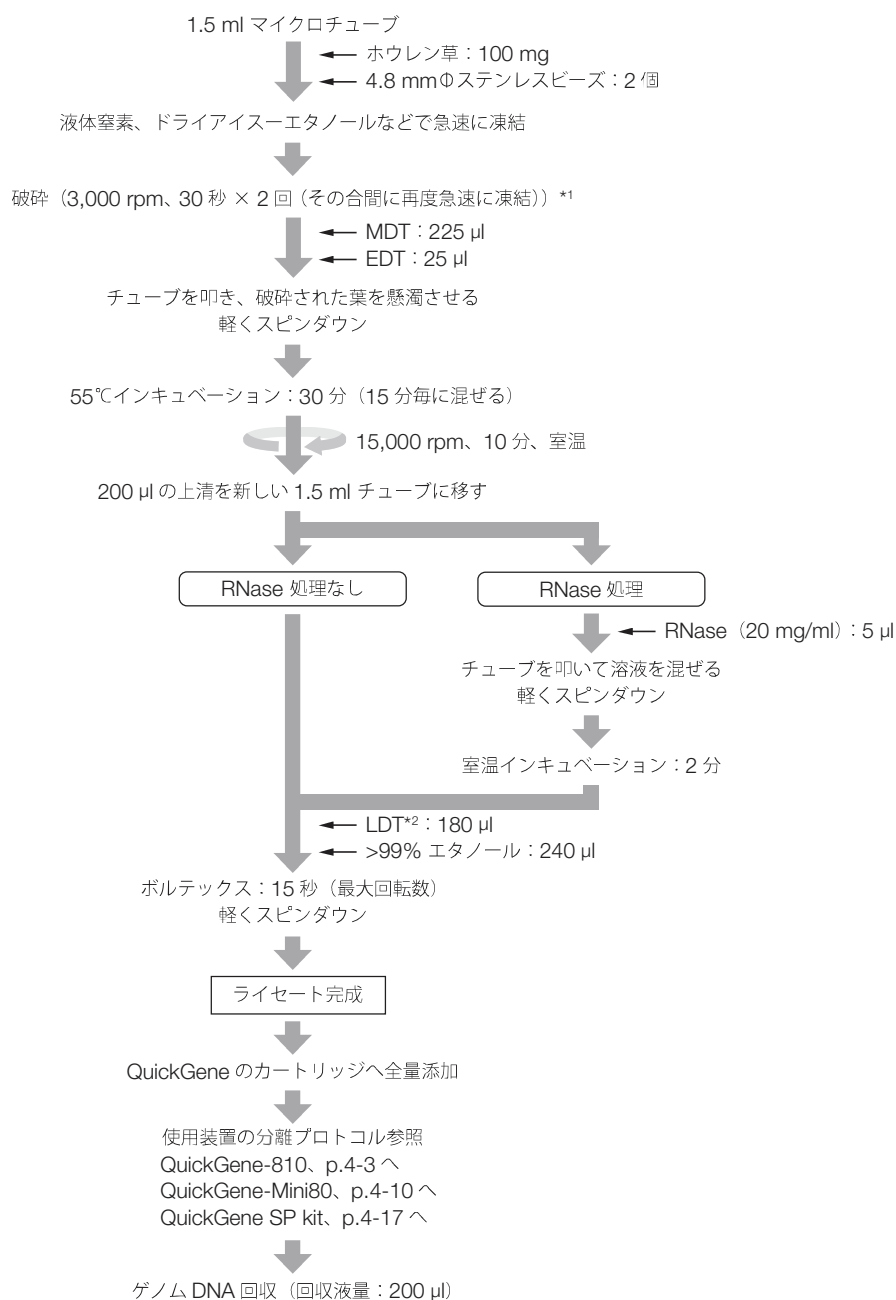
- 電気泳動図
データなし
- ゲノム DNA の収量
データなし
- タンパク質の混入：A260/280
データなし
- カオトロピック塩の混入：A260/230
データなし
- その他
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ホウレン草からのゲノムDNA分離

| プロトコル

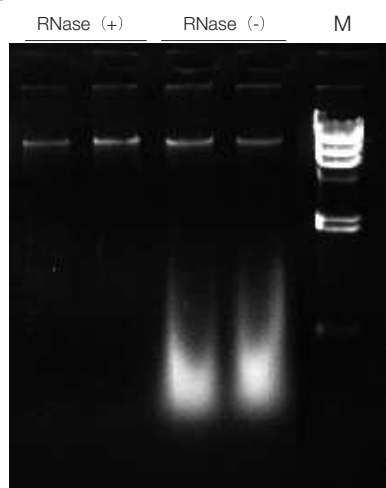


*1 MS-100 (トミー精工) を破碎に使用した。

*2 LDT 添加後沈殿が生じたら、数分間 70°C でインキュベーションして沈殿を溶解した後、>99% エタノールを加えてください。

結果

電気泳動図



電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE

M：λ - *Hind* III

ゲノム DNA の収量

RNase (+)	3.6 μg	4.0 μg	2.8 μg	6.9 μg
RNase (-)	39.6 μg	14.8 μg	44.8 μg	52.0 μg

タンパク質の混入：A260/280

RNase (+)	1.94	1.87	1.80	1.97
RNase (-)	2.22	2.16	2.24	2.24

カオトロピック塩の混入：A260/230

RNase (+)	1.76	1.89	1.77	2.04
RNase (-)	2.24	1.99	2.26	2.29

その他

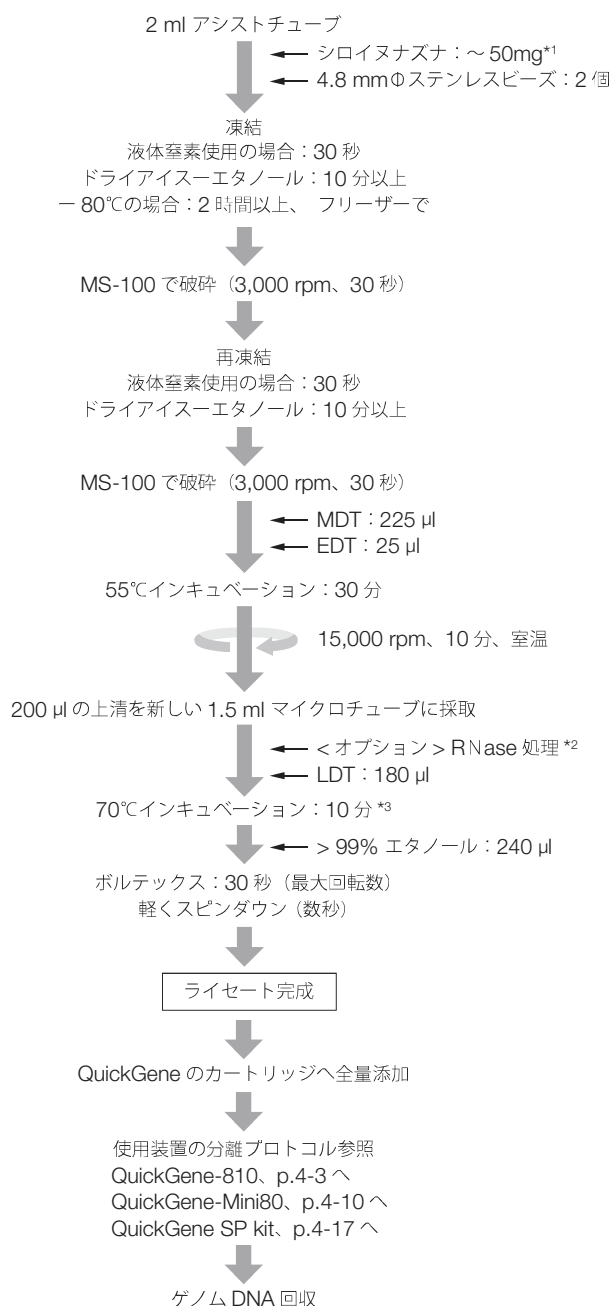
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

シロイヌナズナからのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 成長条件によっては、60 mg が処理できない場合があります。最初に、20～30 mg で試し、それから量を増やしてください。

*2 20 μl の推奨 RNase A 100 mg/ml を加え、室温で2分

*3 LDT の添加後沈殿が生じた場合にこのプロセスを行ってください。沈殿が溶けたら10分以下でOKです。

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

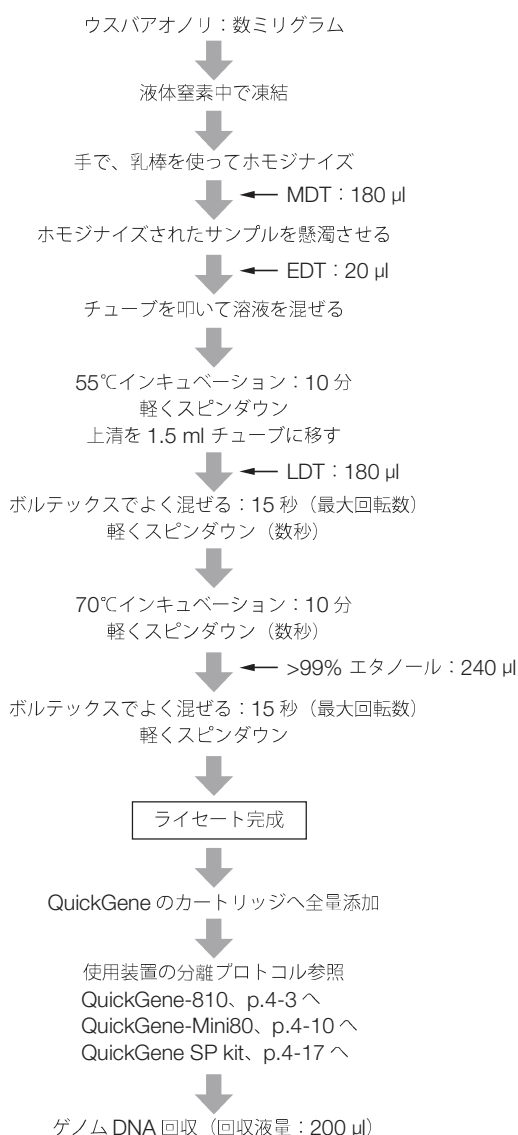
データなし

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

ウスバアオノリ (*Ulva Linza*) からのゲノムDNA分離

■ プロトコル



■ 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

