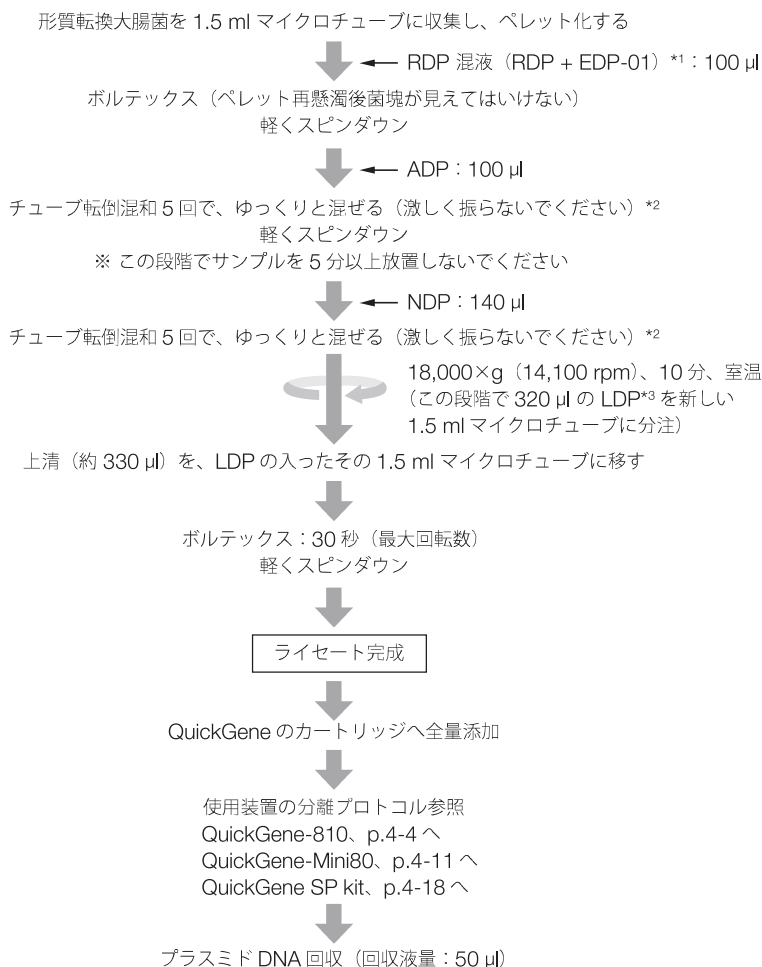


大腸菌からのプラスミドDNA分離

プロトコル



*1 分離を始める前に、EDP-01 の全量を PDP ボトルに添加し、よく混ぜてください。PDP 混液を貯蔵する場合は、冷蔵 (2~8 $^{\circ}$ C) 保存し、6 ヶ月以内に使用することを推奨します。

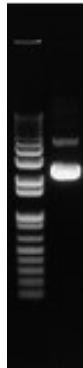
*2 ADP または NDP 添加後直ぐにチューブを 5 回転倒混和で混ぜてください。激しい混合はゲノム DNA の多くの共精製を起こします。混合がゆっくりすぎると液体の不十分な混合が起こり、プラスミド DNA の収量低下を生じます。

*3 使用前に 44 ml の >99% エタノールをボトルに添加し、ボトルの穏やかな転倒混和でよく混ぜてください。

結果

電気泳動図

M 1



1 : QuickGene

M : マーカー
(1 Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)

■ プラスミド DNA の収量

| キット | 収量 |
|-----------|---------|
| QuickGene | 21.4 µg |

■ タンパク質の混入：A260/280

| キット | A260/280 |
|-----------|----------|
| QuickGene | 1.99 |

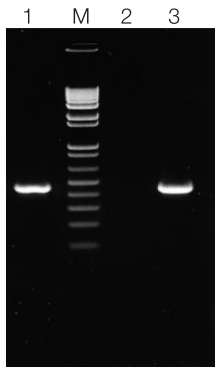
■ カオトロピック塩の混入：A260/230

| キット | A260/230 |
|-----------|----------|
| QuickGene | 2.49 |

■ その他

• PCR

GAPDH をターゲットに使用し、QuickGene システムで分離した 5 ng のテンプレートに対して PCR を行った。



1 : QuickGene
2 : ネガティブコントロール
3 : ポジティブコントロール

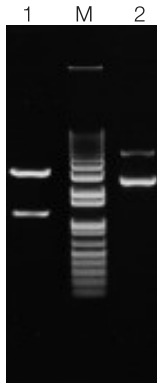
M: マーカー (100 bp DNA Ladder : Invitrogen)

5 ng のテンプレートから PCR 増幅が可能である。

• *Not* I and *Xho* I での制限酵素切断

QuickGene システムを用いて形質転換大腸菌から分離したプラスミド DNA に対して制限酵素処理を行った。

制限エンドヌクレアーゼ (*Not* I および *Xho* I のそれぞれに 0.5 µl) を 10 µl の反応溶液 (1 µl の分離プラスミドを含む) に添加し、37°C で 2 時間インキュベートした。



1 : QuickGene (*Not* I + *Xho* I)
2 : None

M : マーカー (1 Kb Plus DNA Ladder : Invitrogen)

これらの結果から、制限酵素処理が行えることがわかる。

共通プロトコルサンプル

フォスミド