

ヒト全血からのゲノムDNA分離

プロトコル

1.5 ml マイクロチューブ

■ a. EDB 溶液: 30 µl *1 *4 **◆** b. 全血: 200 µl *1 *2 ← c. LDB: 250 µl *1 *3

ピペッティング5回で混合 ボルテックスでよく混合:15秒*5 軽くスピンダウン 56℃インキュベーション:2分間

→ >99% エタノール: 250 µl

ボルテックスでよく混合:15秒*5 軽くスピンダウン



QuickGene のカートリッジへ全量添加



使用装置の分離プロトコル参照 QuickGene-Mini480*6



ゲノム DNA 回収 (回収液量: 200 µl)

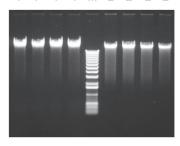
- *1 a, b, c の順序に必ず従ってくだ さい。
- *2 EDTA-2Na または EDTA-2K またはヘパリンで採血した全血の使用を推奨。
- *3 全血添加後直ぐにcを行ってください。
- *4 EDBは、ヌクレアーゼフリー水 を添加混和後、室温で30分静置 し、完全に溶解してからお使いく ださい。
- *5 ボルテックス (最大回転数) で完全に混合してください。 ボルテックスで混合不十分ならば、タッピング、ビベッティングまたは転倒を使用してください。

*6 本事例は旧機種で取得したデータ も含まれます。 その他QuickGeneシリーズでも このプロトコルをご参考頂けま

▋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 µl のヒト全血)

(µg)	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

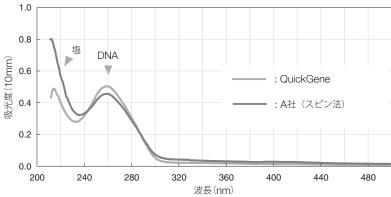
■ タンパク質の混入: A260/280

	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 p53exon6 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 II digest

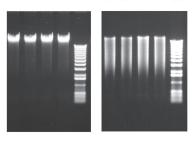
1:スピンカラムを用いる比較法 (<~70kb)

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