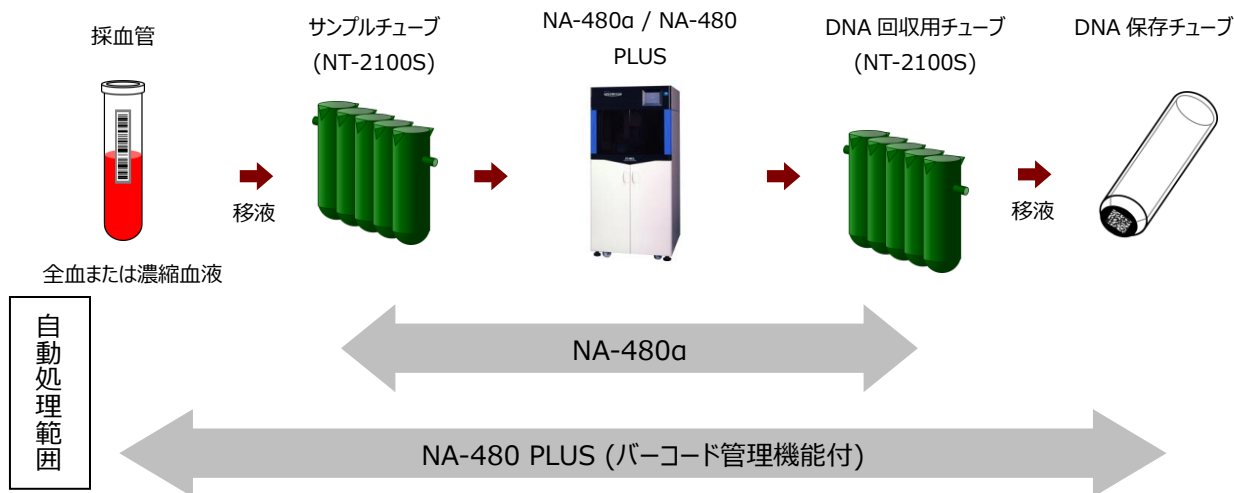


NA-480α BLOOD DNA プロトコル

ヒト全血及び濃縮血液からの DNA 分離精製

クラボウ NA-480α / NA-480 PLUS では、一度に 30 サンプルの DNA の自動分離精製が可能です。
本データではヒト全血、及び濃縮血液からの DNA 分離精製例を示します。



実験条件

サンプル / 処理量 ヒト全血 / 5 ml

ヒト濃縮血液 (血漿を除いた残りの血球成分) / 2 ml

濃縮血液調製方法 (1) 新鮮全血 5 ml を遠心分離 (室温、3,000 rpm、15 分間)する。
(2) 上層の血漿成分を除去する。
(3) 残った白血球層 (バフィーコート)と赤血球成分を混和し、サンプルとして使用する。

分離装置 核酸自動分離装置 NA-480α または NA-480 PLUS

プロトコル BLOOD FRESH V (NA-480α)または FRESH+ 1-5V (NA-480 PLUS)

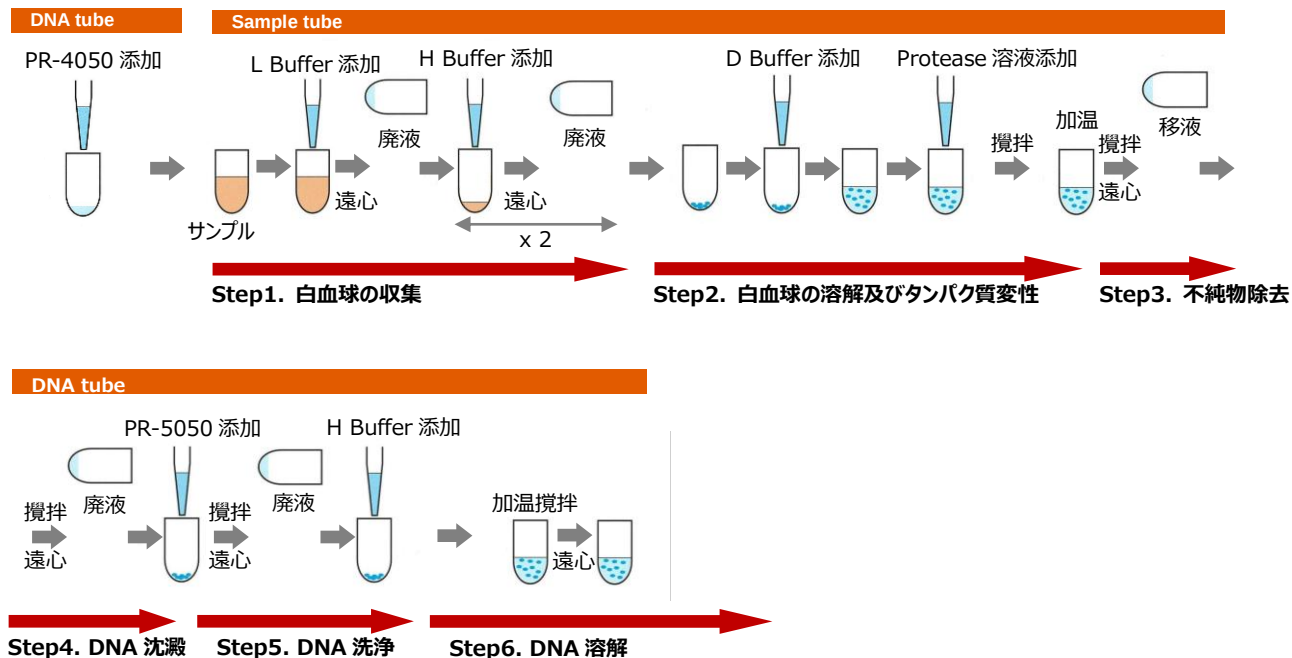
試薬キット NR-120

消耗品 サンプルチューブ: NT-2100S、DNA 回収用チューブ: NT-2100S

精製原理 Protease 及び変性試薬によるタンパク質変性除去、アルコールによる DNA 沈澱

精製工程 Step1. 白血球の収集
Step2. 白血球の溶解及びタンパク質変性
Step3. 不純物除去
Step4. DNA 沈澱
Step5. DNA 洗浄
Step6. DNA 溶解 (溶解設定量 1100 µl)

DNA 分離精製のワークフロー



分離時間 10 サンプル: 約 2.0 時間 (NA-480a) / 約 2.5 時間 (NA-480 PLUS)
 20 サンプル: 約 2.2 時間 (NA-480a) / 約 2.8 時間 (NA-480 PLUS)
 30 サンプル: 約 2.7 時間 (NA-480a) / 約 3.2 時間 (NA-480 PLUS)

分析方法

収量と純度 超微量分光光度計 NanoDrop (Thermo Scientific)を用い、各々の DNA 溶液の 260 nm の吸光度を測定した。DNA 収量は下記の方法にて算出した。

「A260 × 50 × 希釈率 × 最終溶解量」

DNA 純度は A260/A280、及び A260/230 の値より確認した。

パルスフィールドゲル電気泳動解析 DNA 溶液 30 µl を使用して、下記条件にてパルスフィールドゲル電気泳動を行い、分離精製された DNA の鎖長を測定した。

システム: Gene Navigator system (Amersham Biosciences)

泳動条件: 0.5x TBE, 1.2% agarose, 200V, 150 mA (Total 21h)

Phase	Pulse (sec)	Duration (h)
1	0.5	0.5
2	8.0	0.5
3	1.0	3.0
4	2.0	3.0
5	4.0	6.0
6	8.0	8.0

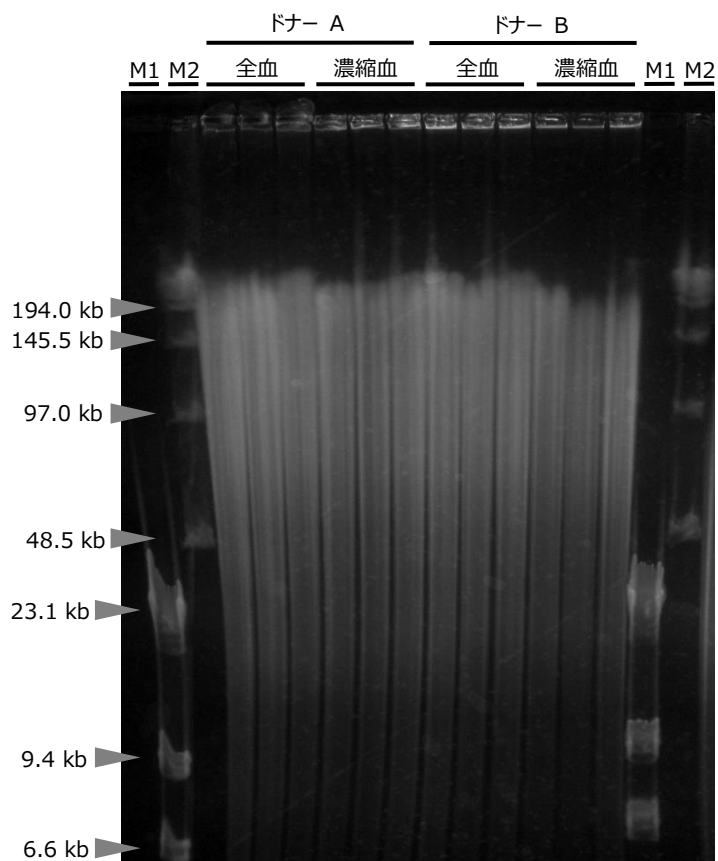
結果

収量と純度

ドナー	サンプル	収量 (μg)	純度	
			A260/280	A260/230
A (白血球数 6,700 個/μl)	全血 5 ml	138.3	1.89	2.26
	濃縮血 2 ml	82.5	1.85	1.96
B (白血球数 3,800 個/μl)	全血 5 ml	77.6	1.83	2.19
	濃縮血 2 ml	56.0	1.84	2.06

パルスフィールドゲル

電気泳動解析



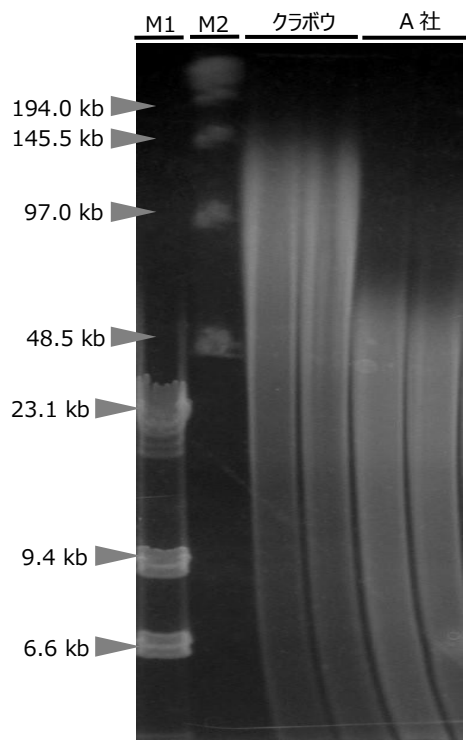
M1: λ/Hind III marker

M2: Lambda PFG Ladder

最大約 200 kb の DNA が分離精製されていることが確認されました。

パルスフィールドゲル電気泳動解析 (他社品との比較解析)

同ドナーから採取したヒト全血 2 ml を、NA-480a (クラボウ) と A 社マニュアルキット (A 社) で処理し、分離精製された DNA に対してパルスフィールドゲル電気泳動解析を行った。



M1: λ /Hind III marker

M2: Lambda PFG Ladder

結果、A 社キットと比較して約 50 kb 以上長い DNA が分離精製されていることが確認されました。

製品情報

分離装置	核酸自動分離装置 NA-480a / NA-480 PLUS
プロトコール	BLOOD FRESH V (NA-480a) / FRESH+ 1-5V (NA-480 PLUS)
試薬キット	NR-120

試薬名称	試薬番号	入数
BR-1083 (L Buffer)	1	2
EDB-02	2	5 vials
BR-3080 (H Buffer)	3	4
BR-8075 (D Buffer)	8	1

PR-4050-5, PR-5050-5

試薬名称	試薬番号(Code)	入数
沈澱試薬 5 本セット	4 (PR-4050)	5
洗浄試薬 5 本セット	5 (PR-5050)	5

専用チューブユニット	サンプルチューブユニット:	NT-2100S
	DNA 回収用チューブユニット:	NT-2100S

分離精製における注意点

ヒトの血液からの DNA 分離精製においては、血液検体の保存状態や個人差により、分離精製結果に大きく差が生じる場合がありますのでご了承ください。

本資料に記載されている商品名は、各社の商標または登録商標です。

倉敷紡績株式会社

〒572-0823

大阪府寝屋川市下木田町 14-30

クラボウ先進技術センター

電話: 072-820-3079

FAX: 072-820-3095