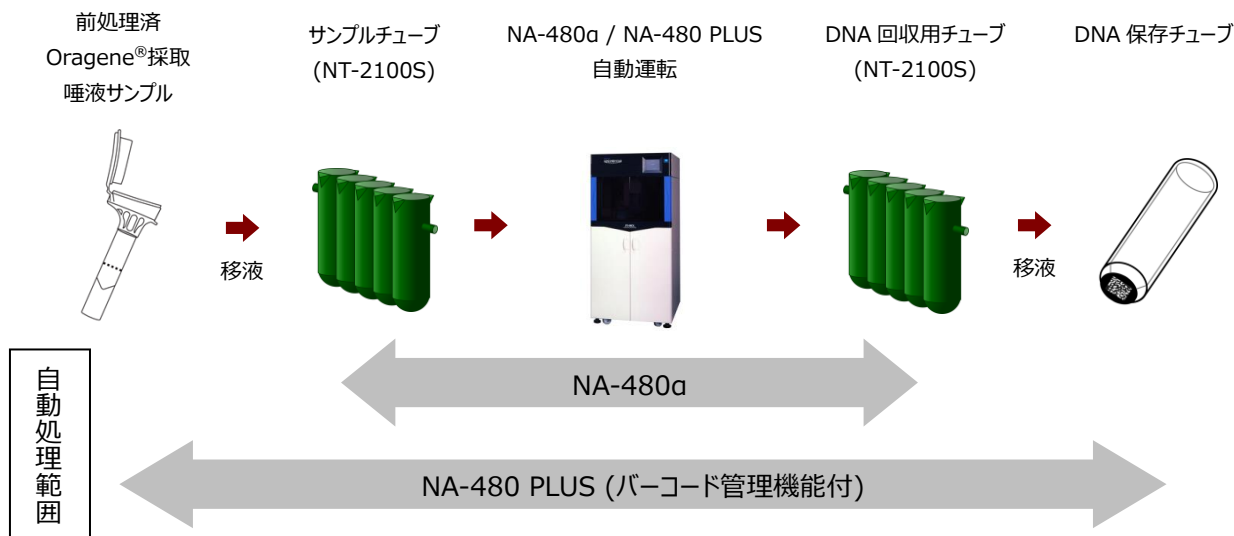


NA-480a SALIVA DNA プロトコル

Oragene®キット採取ヒト唾液からの DNA 分離精製

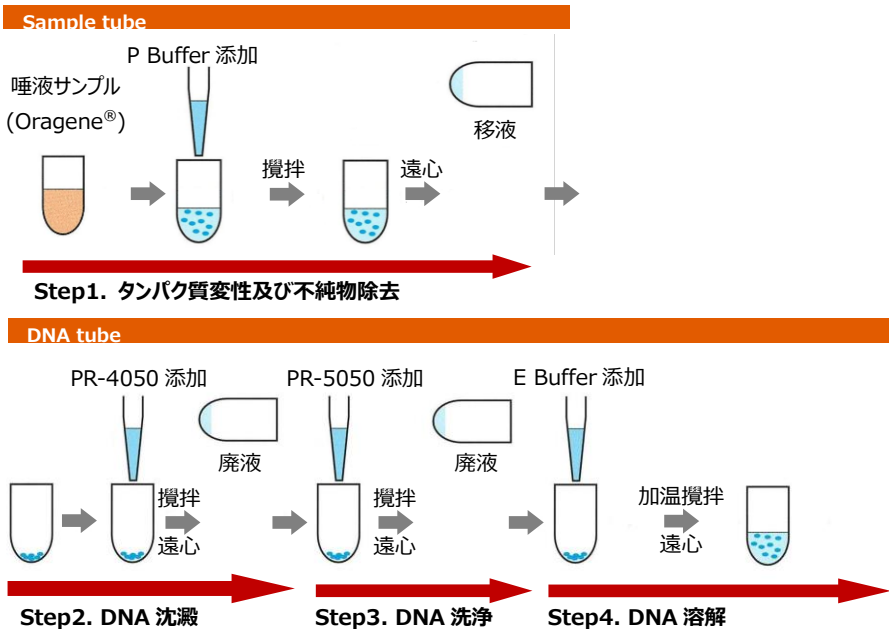
クラボウ NA-480a / NA-480 PLUS では、一度に 30 サンプルの DNA の自動分離精製が可能です。
本データでは Oragene® (DNA Genotec Inc.) で採取したヒト唾液からの DNA 分離精製例を示します。



実験条件

サンプル / 処理量	Oragene®キット採取ヒト唾液 (前処理済) / 2 ml
サンプルの前処理	Oragene®キットで採取したサンプルを 50℃でインキュベートする。 ウォーターインキュベーター：最低 1 時間 エアーインキュベーター：最低 2 時間 (オーバーナイトのインキュベートも可能)
分離装置	核酸自動分離装置 NA-480a または NA-480 PLUS
プロトコル	SALIVA DNA V (NA-480a)または SALIVA+ 2ml V (NA-480 PLUS)
試薬キット	NR-130, PR-4050, PR-5050
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	非フェノール系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. タンパク質変性及び不純物除去 Step2. DNA 沈澱 Step3. DNA 洗浄 Step4. DNA 溶解 (溶解設定量 500 µl)

DNA 分離精製のワークフロー



分離時間 10 サンプル: 約 2.2 時間 (NA-480a) / 約 2.7 時間 (NA-480 PLUS)
 20 サンプル: 約 2.4 時間 (NA-480a) / 約 2.9 時間 (NA-480 PLUS)
 30 サンプル: 約 2.6 時間 (NA-480a) / 約 3.1 時間 (NA-480 PLUS)

分析方法

収量と純度 DNA 純度は、超微量分光光度計 NanoDrop™ (Thermo Scientific™)を用い、各々の DNA 溶液の吸光度を測定、A260/A280 の比率により確認した。DNA 収量は Qubit®アッセイキット、及び Qubit®蛍光光度計を用いて定量した。

PCR 増幅効率 下記条件にてリアルタイム PCR 解析を行い、産物の増幅効率を確認した。
 システム: クラボウ製 Quick Real-time PCR System Model GF-Q150
 ターゲット遺伝子: Human *GAPDH* (Amplicon size: 452bp)

PCR 条件:

Step	Temp&time	Cycles
Pre-denaturation	95℃, 30s	1
denaturation	95℃, 5s	40
annealing	60℃, 10s	
extension	72℃, 10s	
melt analysis	95℃, 5s	1

結果

収量と純度

ドナー	純度 (A260/280)	収量 (μg)
A	1.824	73.6
B	1.843	35.0
C	1.717	7.2
D	1.764	173.3
E	1.831	19.6
F	1.734	91.6
G	1.812	37.7
H	1.739	145.2
I	1.850	35.7
J	1.778	37.0
K	1.837	21.1
L	1.873	13.7
M	1.785	106.5
N	1.830	71.6
O	1.804	77.2

PCR 増幅効率 抽出物よりヒト *GAPDH* 遺伝子の増幅が確認できました。

Ct 値 : 18~19 (テンプレート量 : 10 ng)

分離精製における注意点

ヒトの唾液からの DNA 分離精製においては、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