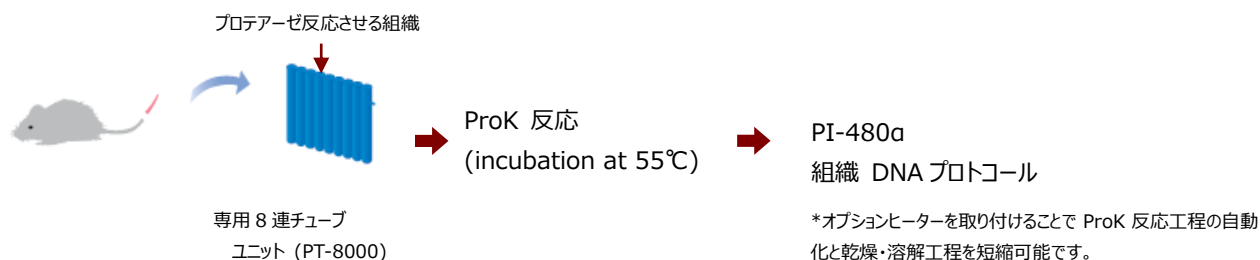


PI-480a 組織 DNA プロトコール

Proteinase K 処理されたマウス組織からの Genomic DNA 分離



クラボウ PI-480aでは、一度に48サンプルのDNAの自動分離精製が可能です。本データではProteinase Kで消化されたマウス組織からのDNA分離精製例を示します。専用にデザインされた8連チューブユニットを用いることで、分離精製の作業を容易に行うことが可能です。



実験結果

サンプル Proteinase K で消化されたマウステイル, 脳 , 肝臓, 腎臓及び心臓.

サンプル量 マウステイル: 10 mg マウス肝臓 : 5 mg
その他の組織: 20 mg

分離装置 PI-480a
組織 DNA プロトコール

試薬キット NR-201
と消耗品 Sample tube, PT-8000; DNA tube, NT-8000

精製原理 組織の溶解: Protease K による消化(前処理)
精製: Phenol 系試薬による蛋白変性
DNA 回収: アルコールによる DNA 沈澱

精製工程 前処理:

終濃度 0.2 mg/ml の Proteinase K, 50-55℃にて 15 時間

Reaction component is as follow;

0.25 ml 0.4 mg/ml Proteinase K 含有プロテアーゼ溶解試薬(No.2, NR-2025)

0.25 ml 組織用懸濁試薬 (No.10, NR-10025)

合計 0.5 ml

PI-480aによる DNA 分離精製:

Step1. 蛋白変性と不純物除去

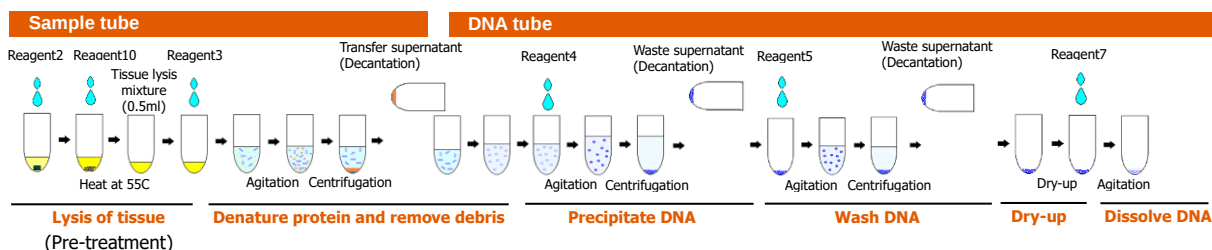
Step2. DNA 沈澱

Step3. DNA 洗浄

Step4. 乾燥

Step5. DNA 溶解試薬(クラボウ, NR-7025)による DNA の溶解 (溶解溶液量 100 µl)

組織 DNA プロトコルのワークフロー



分離時間 48 サンプル: 2.7 hr

48 サンプル: 2.1 hr (オプションヒーター搭載時)

分析方法

収量と純度 分光光度計により各々の DNA 溶液の 260 nm の吸光度を測定。

計算 DNA 収量は下記の方法にて算出した

$A_{260} \times 50 \times \text{希釈率} \times \text{最終溶解量}$

DNA 純度は A_{260}/A_{280} の値より確認

電気泳動 それぞれ DNA 溶液 5 µl を 0.7% agarose gel にて電気泳動を行った

制限酵素による切断 それぞれ分離精製した DNA 1 ug を 10 units の制限酵素で、最適温度で 15 hour 反応を行った。制限酵素: *EcoRI*, *KpnI*, *SacI* 及び *BamHI*

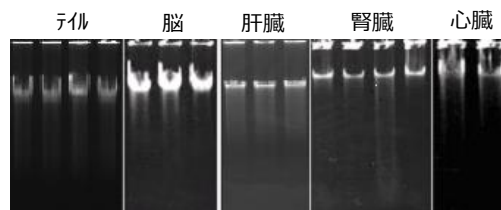
PCR 増幅 鋳型: マウステイルから分離精製した DNA 200 ng
 ターゲット遺伝子: Mouse *ICAM 1*, exon 6-7, amplicon size 535 bp
 DNA polymerase: AmpliTaq Gold® DNA Polymerase (0.6 U)
 PCR 増幅条件: 94°C, 5 min x 1 cycle
 94°C, 20 sec / 68°C, 40 sec / 72°C 1.5 min x 35 cycles
 72°C, 7 min x 1 cycle
 反応液量: 25 µl
 電気泳動: 1.8% agarose gel にて 25 µl の反応液より 10 µl を泳動.

結果

収量と純度

サンプル	テイル	脳	肝臓	腎臓	心臓
収量 (µg) /組織量	21.6 /10mg	30.8 /20mg	11.2 /5mg	21.5 /20mg	17.5 /20mg
純度 (A260/A280)	1.87	1.93	1.73	1.93	1.89

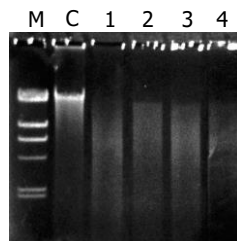
電気泳動



マウス各組織から分離精製された
 DNA 溶液 5 µl in 100 µl

組織量;
 テイル: 10 mg
 肝臓: 5 mg
 その他 3 種: 20 mg

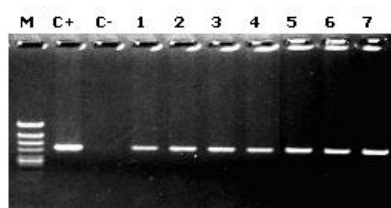
制限酵素による切断



マウステイルから得られた DNA の制限酵素処理結果

M : λ Hind III size maker
 C : 未切断 DNA
 1 : *Eco*RI
 2 : *Kpn*I
 3 : *Sac* I
 4 : *Bam*HI

PCR 増幅



M: ϕ X174 HinII size marker
 C+: Positive control
 C-: Negative control
 1-7: Amplicon of isolated DNA

製品情報

分離装置 PI-480a
組織 DNA プロトコール

試薬キット 組織 DNA 試薬 kit NR-201 (approx. for 650 preps)

試薬名称	試薬番号 (コード)	入数
プロテアーゼ溶解試薬	2 (NR-2025)	1
フェノール試薬	3 (NR-3025)	1
沈澱試薬	4 (NR-4050)	1
洗浄試薬	5 (NR-5050)	3
DNA 溶解試薬	7 (NR-7025)	1
組織用懸濁試薬	10 (NR-10025)	1

専用チューブユニット サンプルチューブユニット: PT-8000 (8-hole, blue, 64 個)
DNA チューブユニット: NT-8000 (8-hole, white, 64 個)

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

クラブウ先進技術センター

電話: 072-820-3079

FAX: 072-820-3095