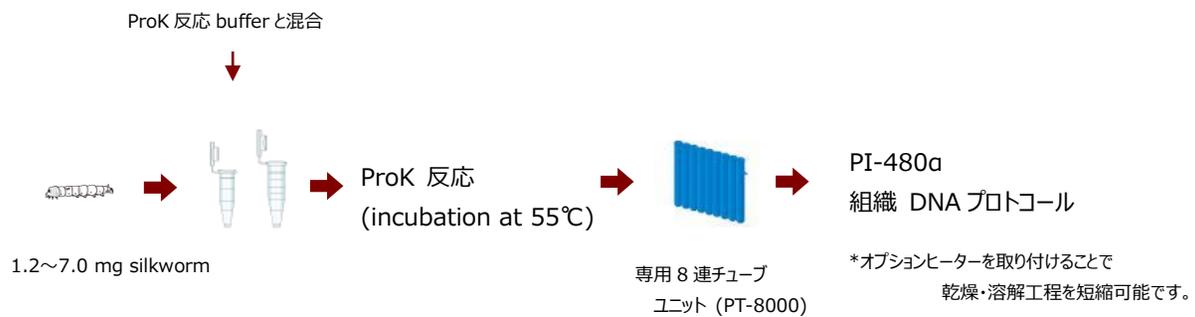


PI-480a 組織 DNA プロトコール

Proteinase K 処理されたカイコ組織からの 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で消化されたカイコ組織からの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 で消化されたカイコ組織。

サンプル量 カイコ組織: 1.2 ~ 7.0 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

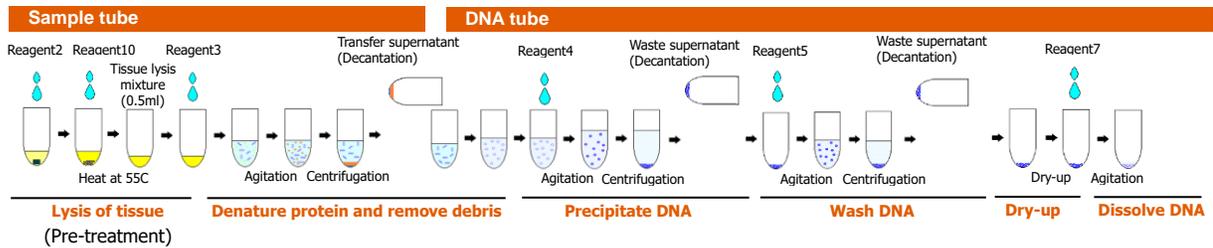
精製工程 前処理:

終濃度 0.2 mg/ml の Proteinase K, 50-55℃にて 15 時間
 反応溶液の条件は下記の通りです。

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)
<hr/>	
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 (溶解液量 100 μ l)

組織 DNA プロトコールのワークフロー


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 10 μ l を 0.7% agarose gel にて電気泳動を行った

PCR 増幅 鋳型: カイコから分離精製した DNA ~100 ng
 ターゲット PCR 部位: R1F1 – R1R1
 DNA polymerase: Takara Ex Taq DNA Polymerase (0.5 U)
 PCR 増幅条件: 95°C, 5 sec x 1 cycle
 95°C, 10 sec / 55°C, 15 sec / 72°C, 30 sec x 40 cycles
 72°C, 7 min x 1 cycle
 反応液量: 10 µl
 電気泳動: 2% agarose gel にて 10 µl の反応液より全量を泳動。

結果

収量と純度

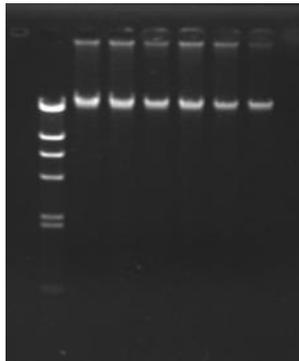
サンプル	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
収量(µg)	18.7	21.4	17.2	17.7	14.0	5.0
/組織量	/6.2 mg	/7.0 mg	/6.7 mg	/6.1 mg	/2.5 mg	/1.2 mg
純度 (A260/A280)	2.1	2.1	2.2	2.0	2.1	2.2

収量は分光光度計による核酸測定値です。

電気泳動

カイコ組織から分離精製された DNA

M 1 2 3 4 5 6



M : λ Hind III size maker

1~6 : カイコ由来 DNA

PCR 増幅

M 1 2 3 4 5 6



M: ϕ X174 Hinc II size marker

1~6 : カイコ由来 DNA PCR 増幅バンド

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