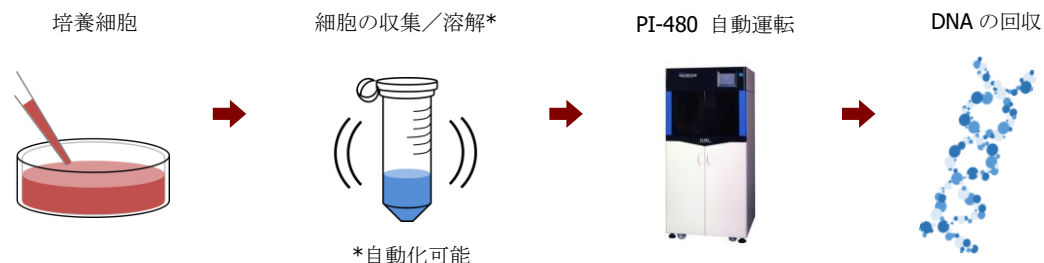


## PI-480 組織 DNA プロトコール

### 培養細胞 (ヒト白血病細胞株 MOLT-4) からの DNA 分離精製

クラボウ GENE PREP STAR PI-480 では、一度に 48 サンプルの DNA の自動分離精製が可能です。本データでは培養細胞 (ヒト白血病細胞株 MOLT-4) からの DNA 分離精製例を示します。



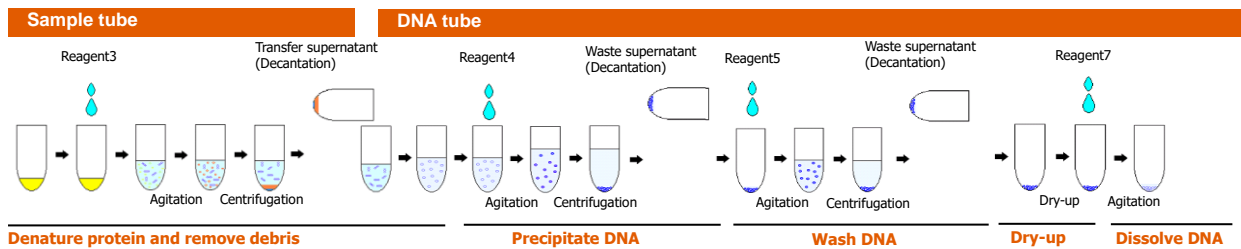
## 実 験

|                        |  |
|------------------------|--|
| サンプル                   | ヒト白血病細胞株 / MOLT-4  |
| サンプル量                  | 1×10 <sup>6</sup> cells  |
| サンプルの前処理<br>*装置での自動化可能 | (1) 遠心分離により培養細胞を収集する<br>(2) 培養上清を除去する<br>(3) 収集した細胞に、0.4 mg/ml の Proteinase K を含むプロテアーゼ溶解試薬 (NR-205) と組織溶解試薬 (NR-10025) を 1 : 1 の割合で添加する<br>(4) 55℃にて 1 時間～反応させる<br>(5) [オプション] RNase を混合し、室温で 30 分間～インキュベートする |
| 分離システム                 | DNA 自動分離装置 GENE PREP STAR PI-480<br>組織 DNA 分離プロトコール  |
| 試薬キット<br>と消耗品          | 組織 DNA キット (NR-201)<br>サンプルチューブ (PT-8000)、DNA 回収チューブ (NT-8000)   |
| 分離精製原理                 | サンプル溶解 : Proteinase K 及び溶解試薬による消化<br>精 製 : フェノール系試薬による蛋白変性<br>DNA 回収 : アルコール試薬による DNA 沈澱   |

## PI-480 による自動分離運転工程

- Step 1. 蛋白変性と不純物除去
- Step 2. DNA 沈澱
- Step 3. DNA 洗浄
- Step 4. 乾燥
- Step 5. DNA 溶解試薬による DNA の溶解  
溶解液量 100  $\mu$ l

## 組織 DNA プロトコールのワークフロー



## 分析方法

**DNA 収量** 蛍光光度測定により dsDNA を定量

システム: Qubit® Fluorometer / Thermo Fisher Scientific

キット: Qubit® dsDNA BR アッセイキット / Thermo Fisher Scientific

**純度** 抽出物の吸光度を測定し、A260/A280 の値より純度を確認

システム: 超微量分光光度計 NanoDrop™ / Thermo Fisher Scientific

**パルスフィールドゲル電気泳動解析** 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

分子量を確認

システム: Gene Navigator system / Amersham Biosciences

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

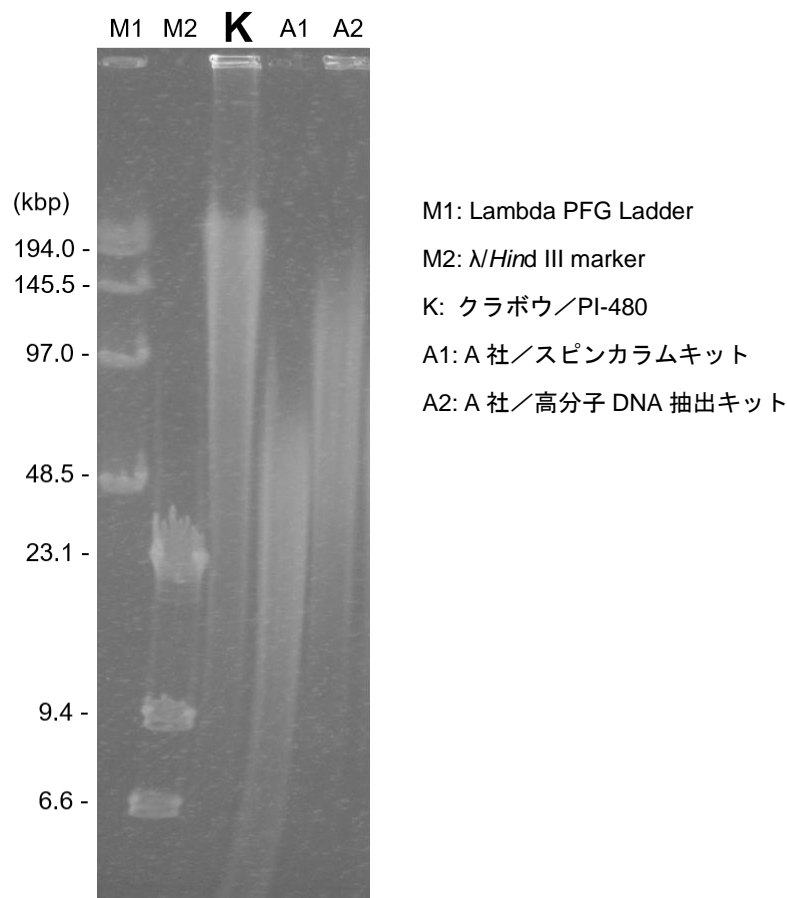
| Phase | Pulse (sec) | Duration (h) |
|-------|-------------|--------------|
| 1     | 0.5         | 0.5          |
| 2     | 8.0         | 0.5          |
| 3     | 1.0         | 3.0          |
| 4     | 2.0         | 3.0          |
| 5     | 4.0         | 6.0          |
| 6     | 8.0         | 8.0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

**結果**

**収量と純度**

| 分離方法                  | 収量 (μg) | 純度       |
|-----------------------|---------|----------|
|                       |         | A260/280 |
| クラボウ/PI-480 (K)       | 10.8    | 1.81     |
| A社/スピнкаラムキット (A1)    | 4.6     | 1.85     |
| A社/高分子 DNA 抽出キット (A2) | 9.7     | 1.80     |

**パルスフィールドゲル  
電気泳動解析**



クラボウの PI-480 は他の分離方法に比べ、より高分子のゲノム DNA が分離精製されていることが確認されました。

ご使用のサンプル種や処理量によっては同様の結果を得られない可能性がございます。事前のバリデーションをお奨め致します。

**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**  
**環境メカトロニクス事業部**  
バイオメディカル部  
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2F  
〒572-0823  
電話: 072-820-3079  
FAX:072-820-3095