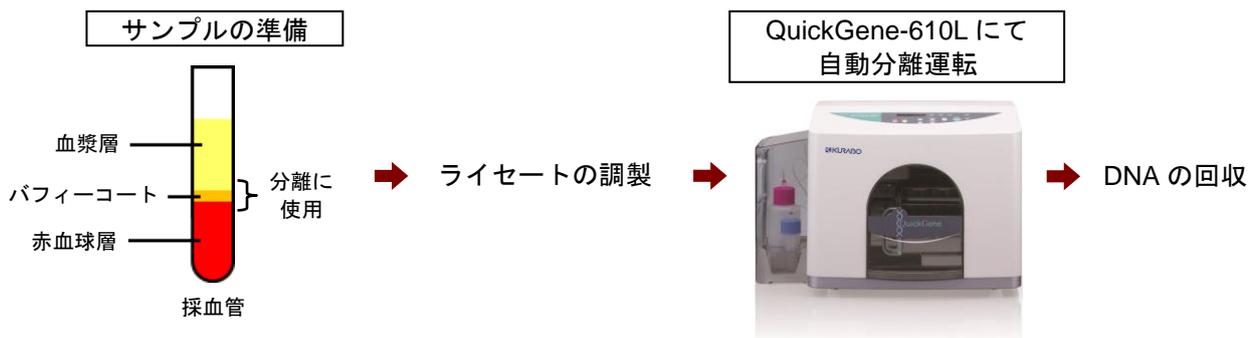


QuickGene DNA Blood kit L

濃縮血液からのゲノム DNA 分離精製

～ DNA extraction from concentrated blood ～

QuickGene-610L と DNA 全血キット L (DB-L) で、濃縮血液 (血液 7ml 相当) から DNA を分離できました。



実 験

サンプル	濃縮血液 (Concentrated Blood)
サンプル量	2ml (7ml 採血管から 3.5 倍濃縮) / 1 サンプル
分離システム	核酸自動分離システム QuickGene-610L 「DNA WHOLE BLOOD」 モード
試薬キット と消耗品	DNA 全血キット L (QuickGene DNA whole blood kit L) 採血管、1.5ml マイクロチューブ、15ml 遠沈管
分離精製原理	多孔質メンブレンを用いたフィルター吸着方式

サンプルの準備

- (1) 抗凝固新鮮全血 7ml 入りの採血管を遠心分離機にセットする。
 - (2) 室温で 15 分間遠心分離 (3,000rpm)する。
 - (3) 分離層を乱さないように、遠心機から注意深く血液サンプルを取り出す。
 - (4) 分離した血液表層より、血漿 2.5ml を注意深く抜き取る。
 - (5) 最下層より、赤血球 2.5ml を注意深く抜き取る。
 - (6) 残った濃縮血液約 2ml (バフィーコートを含む) を分離に用いる。
- ※調製した濃縮血液は、すぐに実験に使用しない場合は-20°C 以下で保存する。

ライセートの調製と QuickGene-610L による自動分離運転

- (1) 前処理酵素 (EDB) に 3.3ml のヌクレアーゼフリー水を添加し、完全溶解させた EDB 0.3ml を 15ml 遠沈管の底に添加する。
- (2) 濃縮血液 2ml を添加する。
- (3) 溶解液 (LDB) 2.5ml を添加し、遠沈管をすぐに上下に 10 回激しく振とう混和する。
- (4) ボルテックス® 等の攪拌機を用い、最大回転数にて 15 秒間攪拌する。
- (5) 56°C で 5 分間、恒温水槽でインキュベートする。
- (6) エタノール (99.5%以上) を 2.5ml 添加し、遠沈管をすぐに上下に 10 回激しく振とう混和する。
- (7) ボルテックス® 等の攪拌機を用い、最大回転数にて 15 秒間攪拌する。ライセート完成。
- (8) ライセート全量を QuickGene-610L 上のカートリッジへ添加する。
- (9) 自動分離運転を開始する (「DNA WHOLE BLOOD」モード)。
- (10) ゲノム DNA を回収する (500µl で溶出)。

分析方法

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

- ・ DNA 収量は「A260 x 50 x 希釈率 x 最終溶解量」にて算出。
- ・ DNA 純度は A260/280 及び A260/230 の値より確認。

蛍光光度計によりサンプル中の dsDNA を定量。

電気泳動： 分離 DNA 溶液 5µl を 1% agarose gel にて電気泳動。

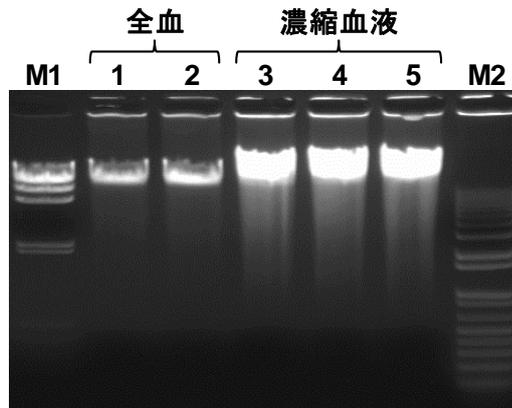
結果

収量と純度

サンプル	No.	分光光度計				収量比
		カオトロピック塩の混入 (A260/230)	タンパク質の混入 (A260/280)	濃度 (ng/µl)	収量 (µg)	
新鮮全血 (濃縮なし)	1	1.768	2.038	117.4	58.7	100%
	2	1.890	1.990	120.2	60.1	102%
濃縮血液 (3.5倍濃縮)	3	2.142	1.952	413.4	206.7	352%
	4	2.126	1.921	381.8	190.9	325%
	5	2.162	1.926	419.8	209.9	358%

※収量比はサンプル No.1 を 100%とした値。 収量は検体により変動します。

電気泳動



M1: TrackIt™ λ DNA/*Hind* III Fragments (Life Technologies)

1: 新鮮全血 (濃縮なし)

2: 新鮮全血 (濃縮なし)

3: 濃縮血液 (3.5 倍濃縮)

4: 濃縮血液 (3.5 倍濃縮)

5: 濃縮血液 (3.5 倍濃縮)

M2: TrackIt™ 1 Kb Plus DNA Ladder (Life Technologies)

QuickGene の装置・キットを用いることで、濃縮した血液から濃縮倍率に相当する量の DNA が得られました。

※本データでは 3.5 倍濃縮の血液で検討していますが、お客様がお使いになるサンプルによっては、収率の低下やカラムの目詰まりを引き起こす可能性があります。本データを参考に、サンプル量、濃縮倍率をご検討下さい。

製品情報

DNA 分離システム： 核酸自動分離システム QuickGene-610L

「DNA WHOLE BLOOD」モード

分離キット： DNA 全血キット L (QuickGene DNA whole blood kit L)

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

バイオメディカル部

〒572-0823

大阪府寝屋川市下木田町 14-5

電話: 072-820-3079

Fax: 072-820-3095

URL: <http://www.kurabo.co.jp>