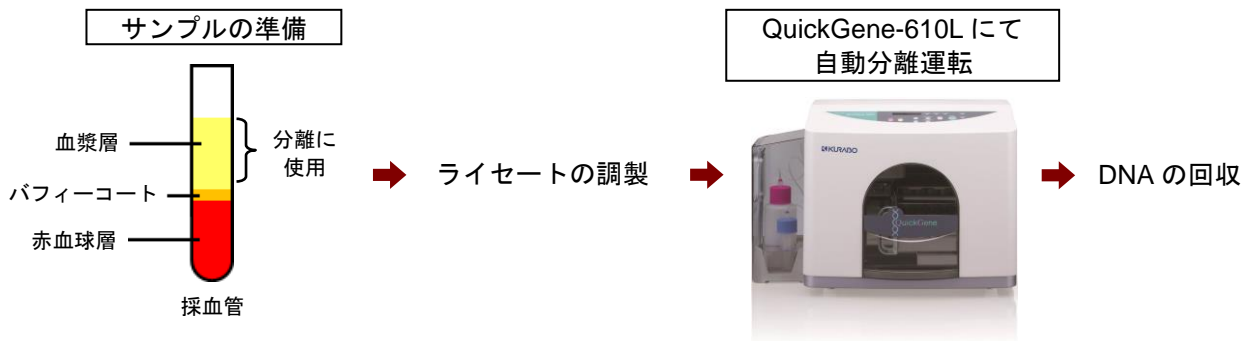


**QuickGene DNA Blood kit L**

**血漿からのゲノム DNA 分離精製**

**~ DNA extraction from blood plasma ~**

QuickGene-610L と DNA 全血キット L (DB-L)を用いて、血漿中に含まれる微量 DNA を回収することができます。



**実 験**

サンプル	血漿 (Blood Plasma)
サンプル量	2ml / 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) 採血管、または遠沈管に入った血液サンプル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、遠心機より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層を抜き取り、別の容器に移す。
- (5) 分離には 1 サンプルにつき、2ml を用いる。

※調製した血漿は、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) 血漿 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® 等の攪拌機で最大回転数にて 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® 等の攪拌機で最大回転数にて 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 (100µl 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。

**P C R：** 以下の条件で PCR を実施。

\*PCR 増幅産物 451bp

・ 10x PCR Buffer (-Mg <sup>2+</sup> )	2.5 µl	94°C	2 min.	
・ 2.5mM dNTPs	2.5 µl	↓		
・ 25mM MgCl <sub>2</sub>	1.5 µl	94°C	30 sec.	x40
・ primer mix (Human GAPDH)	1 µl	↓		
・ Template DNA	2 µl	59°C	1 min.	
・ rTaq polymerase	0.2 µl	↓		
・ H <sub>2</sub> O	15.3 µl	72°C	1 min.	
	25 µl	↓		
		72°C	7 min.	
		↓		
		4°C	∞	

**PCR電気泳動：** それぞれ PCR 反応液 10µl を 1% agarose gel にて電気泳動。

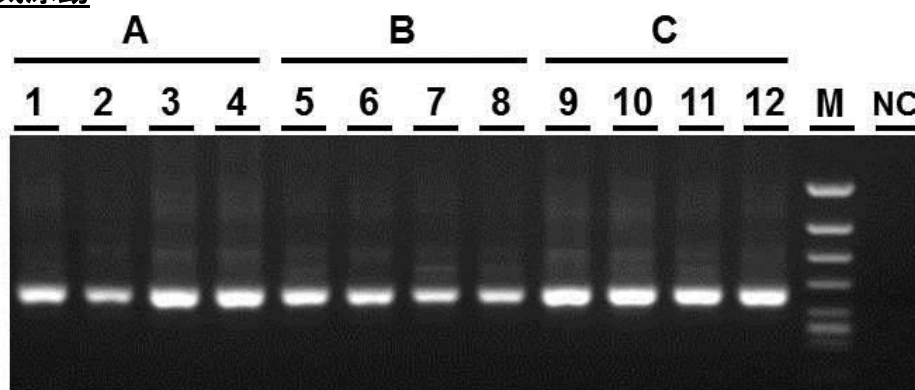
**結果**

**収量と純度**

血漿検体	No.	分光光度計				蛍光光度計	
		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)	濃度 (ng/μl)	収量 (μg)
A	1	0.578	1.560	3.900	0.390	0.466	0.047
	2	0.523	1.533	3.450	0.345	0.428	0.043
	3	0.504	2.000	3.200	0.320	0.392	0.039
	4	0.496	2.000	3.200	0.320	0.490	0.049
B	5	0.560	1.788	4.650	0.465	0.212	0.021
	6	0.632	1.717	3.950	0.395	0.255	0.025
	7	0.481	3.200	3.200	0.320	0.256	0.026
	8	0.556	1.510	3.700	0.370	0.241	0.024
C	9	0.497	1.528	4.050	0.405	0.354	0.035
	10	0.422	1.550	3.100	0.310	0.357	0.036
	11	0.519	1.789	3.400	0.340	0.345	0.035
	12	0.536	2.960	3.700	0.370	0.333	0.033

\*A、B、Cの検体はそれぞれ別の提供者から採取・調製した血漿サンプル

**PCR 電気泳動**



Primer: Human *GAPDH*

M: φX174/*Hinc* II digest marker

NC: Negative Control

**QuickGene 装置・キットを用いて、血漿中に含まれる微量なゲノム DNA を分離精製することができました。**

(弊社内の実験では、処理可能な血漿検体量は最大 3ml まで確認しています)

※お客様がお使いになるサンプルによっては、上記結果を得られない場合がございます。

本データを参考に、サンプル量・溶出量等をご検討ください。

## 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>