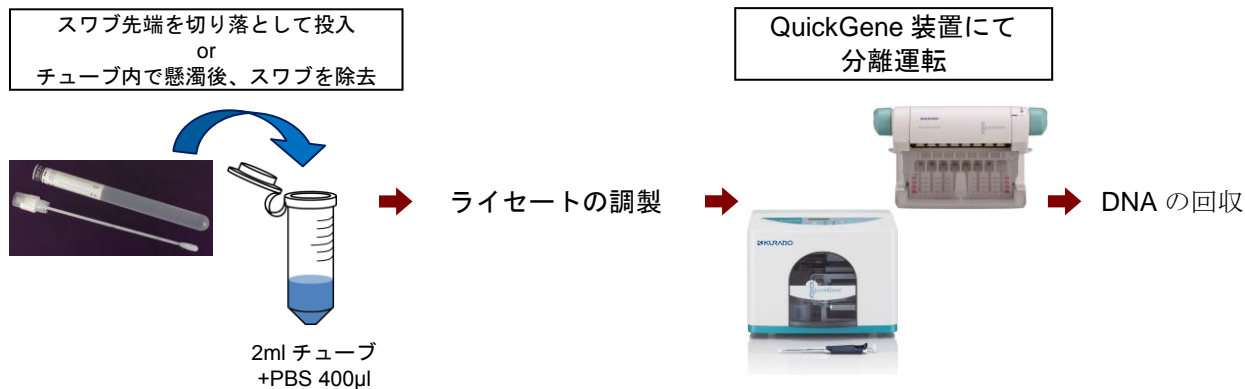


QuickGene DNA tissue kit S

口腔スワブからのゲノム DNA 分離精製 ~ DNA extraction from Oral Swab ~

DNA 組織キット S (DT-S)を用いて、口腔スワブから DNA を分離精製できます。



実験

サンプル	口腔スワブ (Oral Swab)
サンプル量	スワブ 1 本 / 1 サンプル
分離システム	核酸自動分離システム QuickGene-810 「DNA TISSUE」 モード 核酸分離システム QuickGene-Mini80
試薬キット と消耗品	DNA 組織キット S (QuickGene DNA tissue kit S) 1.5ml、2ml マイクロチューブ
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. スワブをチューブ内に投入して分離運転を行う場合には、コットン (綿) や木材など、生体由来の素材を使用していないスワブ (ポリプロピレン製の軸にポリエステル製の綿球など) をご使用ください。
- *2. 溶液を効率よく回収するためにスポンジタイプのスワブを推奨します。
- *3. 分離した DNA サンプルに影響する可能性があるため、検体を採取する 30 分以内にサンプル提供者が飲食をしていないことを確認してください。

- (1) スワブで口腔粘膜細胞を採取します。
- (2) すぐに分離に用いない場合 (保存・運搬) はスワブを乾燥させます (目安: 30 分~1 時間)。

ライセートの調製と QuickGene 装置による分離運転

(1) 2ml チューブに 1x PBS 400 μ l を入れる。

~スワブをチューブに入れたまま分離処理する場合~

(2-a) スワブ先端部を切り落として (1) の中に投入する。

~スワブをチューブから除去して分離処理する場合~

(2-b) スワブを (1) 内で PBS に懸濁し、除去する (スワブを内壁に押し付けて液を最大量回収する)。

(3) 前処理酵素 (EDT) 10 μ l を添加する。

(4) 溶解液 (LDT) 200 μ l を添加する。

(5) ボルテックス[®] 等の攪拌機で最大回転数にて 15 秒間攪拌し、スピンドアウンする。

(6) 56 $^{\circ}$ C で 1 時間、ヒートブロックでインキュベートする (時々ボルテックス[®] 等で攪拌)。

(7) エタノール (99.5%以上) を 200 μ l 添加する。

(8) ボルテックス[®] 等の攪拌機で最大回転数にて 15 秒間攪拌、スピンドアウンする。ライセート完成。

(9) ライセート全量を QuickGene 装置上のカートリッジへ添加する。

(10) QuickGene 装置にて DNA の分離を行う (キット付属のハンドブックを参照)。

(11) ゲノム DNA を回収する (100 μ l 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 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 10 μ l を 1% agarose gel にて電気泳動。

P C R： 以下の条件で PCR を実施。

*PCR 増幅産物 451bp

		94 $^{\circ}$ C	2 min.	
		↓		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 10x PCR Buffer (-Mg²⁺) ・ 2.5mM dNTPs ・ 25mM MgCl₂ ・ primer mix (Human GAPDH) ・ Template DNA ・ rTaq polymerase ・ H₂O 	2.5 μ l 2.5 μ l 1.5 μ l 1 μ l 2 μ l 0.2 μ l 15.3 μ l <hr style="border: 0.5px solid black;"/> 25 μ l	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> 94$^{\circ}$C 30 sec. ↓ 59$^{\circ}$C 1 min. ↓ 72$^{\circ}$C 1 min. </div>	x30	
		↓		
		72 $^{\circ}$ C	7 min.	
		↓		
		4 $^{\circ}$ C	∞	

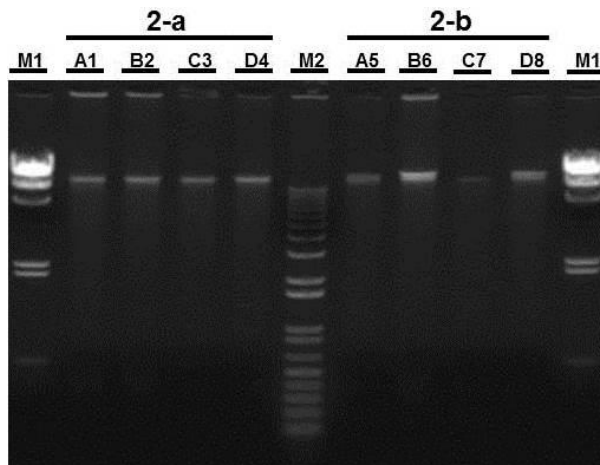
PCR 電気泳動： PCR 産物 10 μ l を 2% agarose gel にて電気泳動。

結果

収量と純度

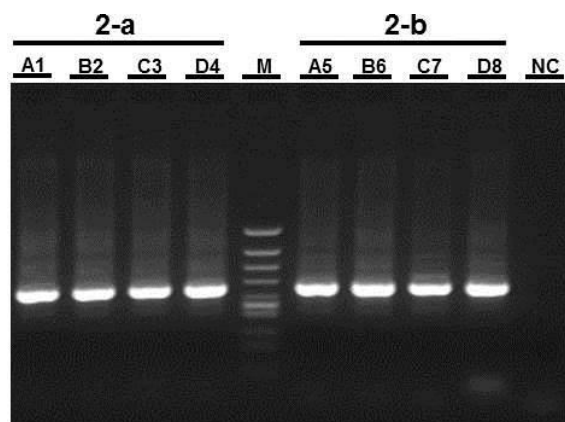
サンプル		分光光度測定			蛍光光度測定	
分離条件	名前	タンパク質の混入 (A260/280)	濃度	収量	濃度	収量
			(ng/μl)	(μg)	(ng/μl)	(μg)
(2-a) スワブをチューブに入れたまま分離	A1	1.900	25.7	2.6	14.8	1.5
	B2	1.954	27.6	2.8	14.4	1.4
	C3	2.000	12.8	1.3	10.3	1.0
	D4	1.768	12.6	1.3	14.1	1.4
(2-b) スワブをチューブから除去して分離	A5	1.920	10.9	1.1	11.2	1.1
	B6	1.889	35.9	3.6	20.6	2.1
	C7	2.075	7.0	0.7	6.4	0.6
	D8	1.845	10.2	1.0	12.2	1.2

電気泳動



M1: TrackIt™ λ DNA/*Hind* III Fragments (Life Technologies)
M2: TrackIt™ 1Kb Plus DNA Ladder (Life Technologies)

PCR 電気泳動



M: φX174/*Hinc* II digest (TaKaRa)
NC: Negative Control

分離条件について

- ・ スワブをサンプルチューブに入れたまま分離 (2-a)
 - ・ スワブをサンプルチューブから除去して分離 (2-b)
- の両条件で、口腔スワブより DNA を分離精製することができます。

※操作性と収量を考慮するとスワブをチューブに投入する条件 (2-a) が望ましいです。

※検体の個体差や採取方法 (スワブでの擦り方・強さ) の差により、結果のバラツキが発生する可能性があります。

使用するスワブについて

スワブの種類によっては本資料と同条件で実験が行えない可能性があります。お客様が実際に使用される際はスワブの種類を確認し、分離条件をご検討ください。

※直接投入して分離できない場合、スワブを懸濁後に除去する条件 (2-b) 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-810「DNA TISSUE」 モード

核酸分離システム QuickGene-Mini80

分離キット： DNA 組織キット S (QuickGene DNA tissue kit S)

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>