



Application

植物サンプル由来クローニング阻害物質を除去するためのアガロースゲルからのDNAの抽出

製品名

FastGene™ Gel / PCR Extraction Kit (FG-91202, FG-91302)

メーカー名

日本ジェネティクス株式会社

下記のデータは、株式会社ファスマック 事業開発部 (種苗検査担当) 大崎康平 様のご厚意により掲載させていただきました。

方法

● 目的

抽出した核酸から、クローニングの阻害となる低分子領域を除去するため、ゲルの切り出し精製を実施し、ターゲットとなる高分子側のDNAを回収した。

精製後のサンプルをクローニング、ライブラリーを作成し、シーケンス、相同性解析を実施した。

● サンプルの条件

種類 : 植物葉 2種類
処理 : 核酸抽出後、RT-PCR・全核酸増幅、ゲル抽出
キットへの使用量 : アガロースゲル200mg程度

● 溶出バッファの使用量

50μL

● 手順

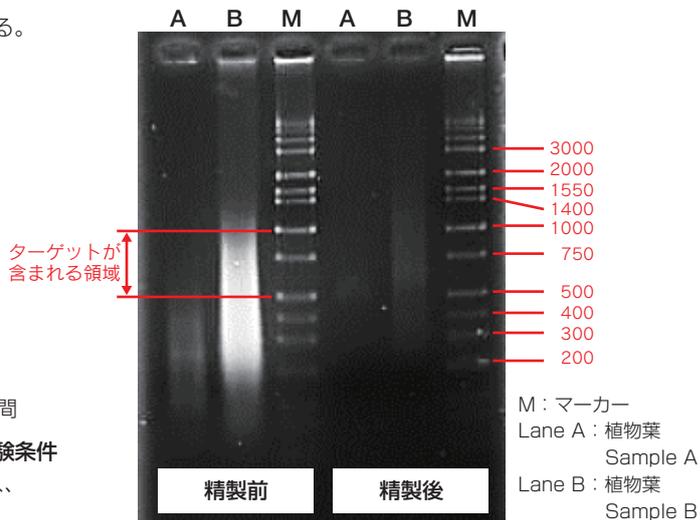
1. 核酸抽出後、RT-PCRを行った
2. 2% TAE アガロース 100V 20min で電気泳動を行いDNA断片を分離した
3. 目的断片を切り出し、1.5mLエッペンチューブに移した
4. FastGene™ Gel/PCR Extraction Kit (FG-91302) を使用してDNAを回収した
5. GP3バッファ 50μLで溶出後のDNA溶液の濃度を測定した
6. 回収したDNAサンプルを電気泳動した

結果

● 精製前と精製後のDNAの電気泳動図と濃度と純度の結果は下記である。

DNA濃度・純度 (Sample A / B)

	精製前 (100 μL Buffer)		精製後 (50 μL GP3)	
	Sample A	Sample B	Sample A	Sample B
濃度 (ng/μl)	1186.7	1037.1	0.01	13.17
260/280 nm	1.80	1.76	0.00	1.97
260/230 nm	1.93	1.84	0.00	15.24



ゲルの電気泳動条件

1レーン10μL使用、TAEバッファ、2%TAEアガロース、100V 20分間

ダウンストリームアプリケーション (シーケンスなど) のデータや試験条件

精製後のサンプルをクローニング、ライブラリーを作成し、シーケンス、相同性解析を実施。



お客様のコメント

今回、全核酸増幅後、ターゲットが含まれる領域 (500-1000 bp) のみを得るために、本キットを使用し、ゲルの切り出し精製を実施しました。当然ながら、この工程により、クローニング効率 (ターゲットがインサートされる確立) が上がり、相同性解析において、目的とする配列データが検出される率も上がりました。サンプルAは、目的とする領域がほとんど増幅されていなかったため、精製後の回収率は、0に近い値を示しています。一方、サンプルBは、目的領域が増幅されていたため、サンプルAとは反対の結果となりました。