



Technical Data

ハイスループット自動DNA断片ゲル抽出システム PippinHT™ 製品評価

評価製品

PippinHT™ (sage science, Cat.No. HTP0001)

目的

PippinHT™ を用いたDNA断片の分画性能を検証する。

評価方法

コントロールDNAを使用して、1.5%ゲルカセットで400 bpのサイズセレクションを行った。分画条件を3パターン設定し、それぞれの分画条件で分画されるサイズと回収量を確認した。併せてサイズマーカーの方式（インターナル/エクスターナル）の違いによるサイズ、回収量の差を検証した。



PippinHT™

試薬

- 1.5% Dye Free for 300-1500 bp, Internal Standards, 15C (Cat.No.HTC1510)
- DNA for Validation of 1.5% Agarose Cassettes, 48 loads (Cat.No.CDH1504)



分画実験条件

レーン	サンプル	Start (bp)	End (bp)
1	Control DNA + Marker (Internal)	300	500
2			450
3		350	550
4			450
5		250	550
6			550
7	Marker (External)	300	500
8	Control DNA		
9	Marker (External)	350	450
10	Control DNA		
11	Marker (External)	250	550
12	Control DNA		

◆ 泳動条件

- ・ゲルカセット : 1.5% Dye Free
- ・マーカー : 15C
- ・モード : Range Mode
- ・ターゲット : 400 bp

◆ マーカー

- ・レーン1～6 : インターナルマーカーとして使用*
 - ・レーン7～12 : エクスターナルマーカーとして使用
- *レーン2, 4, 6は、それぞれレーン1, 3, 5のマーカーをもとに分画される

◆ サイズ設定

- ・400±100 bp (メーカー推奨条件**)
- ・400±50 bp
- ・400±150 bp

**コントロールDNAで、400 bpをターゲットとした場合のメーカー推奨条件

◆ アプライ量 (全量 25 µL, コントロールDNAインプット量492.0 ng)

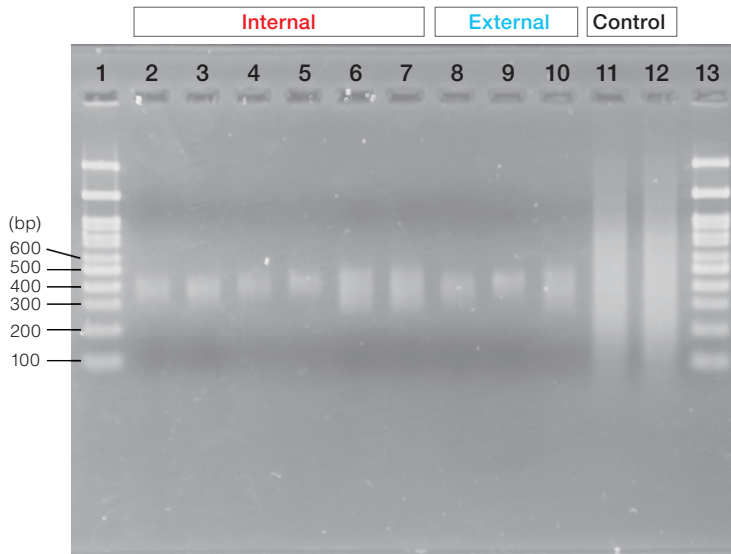
- ・レーン1～6 : コントロールDNA 20 µL+マーカー 5 µL
(インターナルマーカーレーン)
- ・レーン7, 9, 11 : マーカー 5 µL+ 10 mM Tris-HCl 20 µL
(エクスターナルマーカーレーン)
- ・レーン8, 10, 12 : コントロールDNA 20 µL+ Loading Solution 5 µL
(エクスターナルマーカーレーン)

◆ 溶出量 30 µL (取扱説明書準拠)

結果

① 電気泳動

電気泳動で分画サイズを確認 (溶出量 30 μ L 中 5 μ L 使用)



【泳動条件】

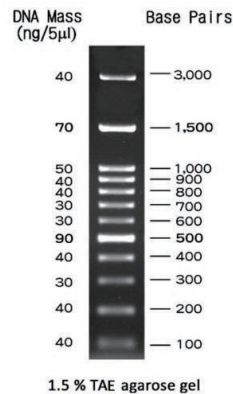
アガロースゲル濃度 : 1.0 %
 電圧 : 100 V
 泳動時間 : 25分
 泳動 Buffer : 1 x TAE
 泳動槽 : Mupid®-exU
 染色条件 : Midori Green Xtra
 (FastGene™ Cat.No. NE-MG10)
 (後染め、30分)

【撮影条件】

FAS-Digi PRO
 (日本ジェネティクス株式会社 Cat.No.GP-07LED)
 ISO 感度 : Auto, Exposure time : 1sec, Aperture : 5.6

レーン サンプル

- 1・13 : 100 bp DNA Ladder (FastGene™)
 2 : 400 \pm 100 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン1
 3 : 400 \pm 100 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン2
 4 : 400 \pm 50 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン3
 5 : 400 \pm 50 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン4
 6 : 400 \pm 150 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン5
 7 : 400 \pm 150 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン6
 8 : 400 \pm 100 bp (External Marker), 分画実験条件レーン8
 9 : 400 \pm 50 bp (External Marker), 分画実験条件レーン10
 10 : 400 \pm 150 bp (External Marker), 分画実験条件レーン12
 11 : Control DNA (5倍希釈)
 12 : Control DNA (原液)



100 bp DNA Ladder
 (FastGene™ Cat.No.NE-MWD100)

② 回収した分画の濃度測定

		濃度 (ng/ μ L)	回収量 (ng)
400 \pm 100 bp (推奨条件)	Internal Marker	3.6	108.9
	External Marker	3.8	114.6
400 \pm 50 bp	Internal Marker	2.3	68.7
	External Marker	2.6	76.8
400 \pm 150 bp	Internal Marker	5.6	166.5
	External Marker	4.3	127.8

Internal Marker : n=2の平均値
 External Marker : n=1

測定機器 : Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (ThermoFisher Scientific)

まとめ

- 400 \pm 100 bp (メーカー推奨)、400 \pm 50 bp、400 \pm 150 bp のいずれの条件でも、機器のサイズセレクションの設定通りに分画することができた。
- 分画サイズや回収量は、インターナルマーカー、エクスターナルマーカーどちらの使用方法でも、ほとんど変わらないことが分かった。