



Crystal Digital PCR™

ドロップレットの回収



富士フイルム 和光純薬株式会社

サファイアチップからのドロップレットの回収

Naica System™ は、PCRの前後に簡単な手順でサファイアチップからドロップレットを回収することができます。回収されたエマルジョンに含まれるDNAは、標準的なクロロホルム法で抽出でき、次世代シーケンス、デジタルPCR、リアルタイムPCR、またはゲル電気泳動に使用可能です。回収および抽出にかかる時間は、24サンプルで約1時間です(図1)。



1 Crystal Digital PCRの後、サファイアチップをジオードに戻し、ドロップレット回収プログラムを実行します。



2 ジオードからサファイアチップを取り出し、青色のキャップを外します。エマルジョンをピペットで吸引します。



3 クロロホルムでエマルジョンを溶解し、DNAを抽出します。

図1. サファイアチップからのドロップレット回収プロトコル概要

DNA回収率

DNA回収率は、既知量のヒトゲノムDNAを含むドロップレットを生成し、回収の前後にサファイアチップ中のドロップレットを数えることによって評価しました。上記のプロトコルを使用してドロップレットからDNAを抽出し、回収されたDNAをCrystal Digital PCRによってカウントしました。

結果:

- ・少なくとも98%のドロップレットがサファイアチップから回収されました。
- ・平均で最初のドロップレット中に存在するDNAの70%が回収されました(図2)。

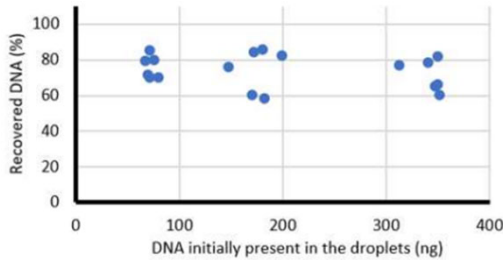


図2. ドロップレットから回収したDNAのパーセンテージと、ドロップレット中に最初に存在した全DNAの量 (ng) のグラフ。サンプルを2回、N = 3 でアッセイしました。

1つだけのポジティブドロップレットからPCR増幅産物を回収することは可能ですか? : 可能です。

少数のポジティブドロップレットが存在するサファイアチップでPCR増幅産物の回収を評価しました。低濃度に調製したヒトDNAを使用し、ALBとBRAF遺伝子をターゲットにして数個のポジティブが生成されるようにCrystal Digital PCRを行いました。ターゲットDNAの増幅産物は、少なくとも1つのポジティブドロップレットのあるサンプルで全て回収できました。No Target Control (NTC) から回収されたドロップレットからターゲットDNAは検出されませんでした(表 1)。

チャンパー内のポジティブドロップレットの数	0 (NTC)	1	2	3	4
DNAを回収したチャンパーの数/テストしたチャンパーの総数	0/3	4/4	9/9	4/4	3/3

表1. 少数のポジティブドロップレットを有するチャンパーからのPCR増幅産物の回収

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号

TEL: 06-6203-2759 (機器システム部)

東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号

TEL: 03-3270-8124 (機器システム部)

●九州営業所 TEL: 092-622-1005 (代) ●中国営業所 TEL: 082-569-8095 (代)

●東海営業所 TEL: 052-772-0788 (代) ●筑波営業所 TEL: 029-858-2278 (代)

●東北営業所 TEL: 022-222-3072 (代) ●北海道営業所 TEL: 011-271-0285 (代)

●横浜営業所 TEL: 045-225-8041 (代)

URL : <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/kiki/index.htm>