

3-VIII 章

培養細胞からのゲノム DNA 分離

DG-1

 QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)
 QuickGene SP kit DNA tissue (SP-DT)

ヒト HepG2培養細胞からのゲノムDNA分離

プロトコル

1.5 ml マイクロチューブ中の~ 1×10^6 個の細胞



培養上清を除去し PBS で洗浄する

PBS を完全に除去する



PBS : 180 μ l

チューブを 5 回タッピングしペレット化した細胞を懸濁させる



<オプション> RNaseA 处理 *1

EDT : 20 μ l



チューブを 5 回タッピングして溶液を混ぜる



LDT : 180 μ l

ボルテックスでよく混ぜる：15 秒 *2

軽くスピンダウン



70°C インキュベーション：10 分

軽くスpinダウン



>99% エタノール : 240 μ l

ボルテックスでよく混ぜる：15 秒 *2

軽くスpinダウン



ライセート完成



QuickGene のカートリッジへ全量添加



使用装置の分離プロトコル参照

QuickGene-810、p.4-3 へ

QuickGene-Mini80、p.4-10 へ

QuickGene SP kit、p.4-17 へ

ゲノム DNA 回収 (回収液量 : 200 μ l)

*1 RNaseA : 20 μ l
 チューブを 5 回タッピングして溶液を混ぜる。
 軽くスpinダウン
 常温で 2 分間放置

*2 ボルテックスで完全に混ぜる
 (最大回転数)
 ボルテックスで混合が不十分ならば、タッピング、ビベッティングあるいは転写液と混和を使用。

結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

HepG2 細胞の数	収量 (μ g)
5×10^5 個	5.2

タンパク質の混入 : A260/280

HepG2 細胞の数	A260/280
5×10^5 個	1.7

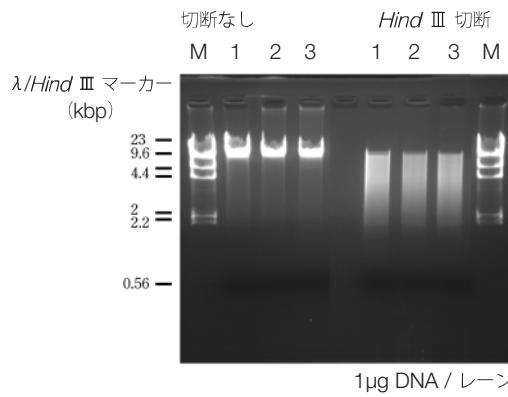
カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

• 制限酵素切断

QuickGene 分離システムと試薬を用いて数種の細胞株から分離されたゲノム DNA の *Hind* III 制限酵素切断断片の AGE



QuickGene-810（自動核酸分離システム）および QuickGene DNA tissue kit S を用いて分離したゲノム DNA が *Hind* III 制限酵素で効果的に切断された。

M : λ/*Hind* III digest

1 : HepG2 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

2 : Huh6 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

3 : Huh6 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

■ 共通プロトコルサンプル

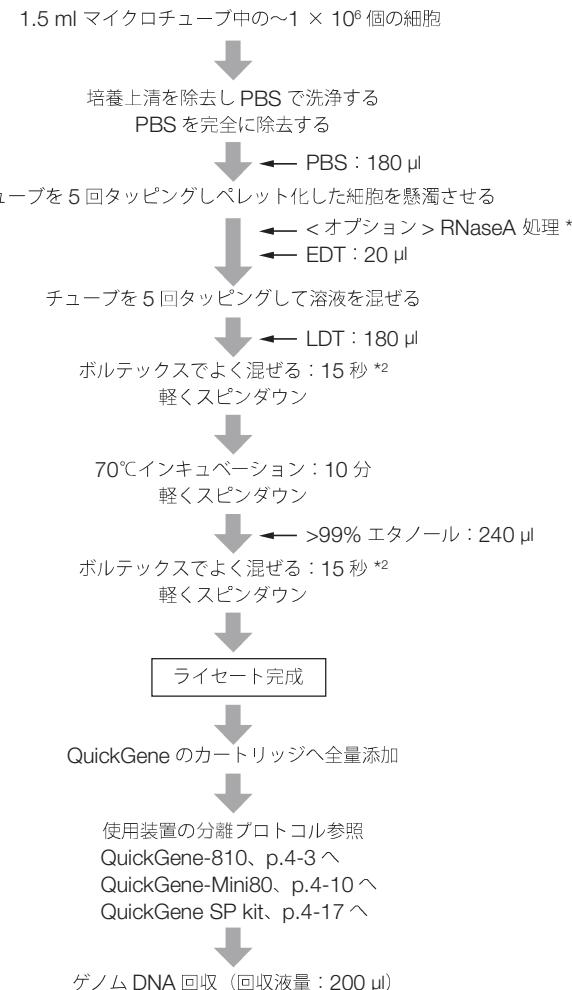
ラット PC-12 培養細胞、マウス ES 培養細胞

DG-2

 QuickGene DNA tissue kit S (DT-S)
 QuickGene SP kit DNA tissue (SP-DT)

ヒト Huh6 培養細胞からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 RNaseA : 20 μ l
チューブを 5 回タッピングして溶液を混ぜる。
軽くスピンダウン
常温で 2 分間放置

*2 ポルテックスで完全に混ぜる
(最大回転数)
ポルテックスで混合が不十分ならば、タッピング、ビベッティングあるいは転倒混和を使用。

結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

Huh6 細胞の数	収量 (μ g)
Huh6	7.6
Huh6 から由来	6.6

タンパク質の混入 : A260/280

Huh6 細胞の数	A260/280
Huh6	1.8
Huh6 から由来	1.7

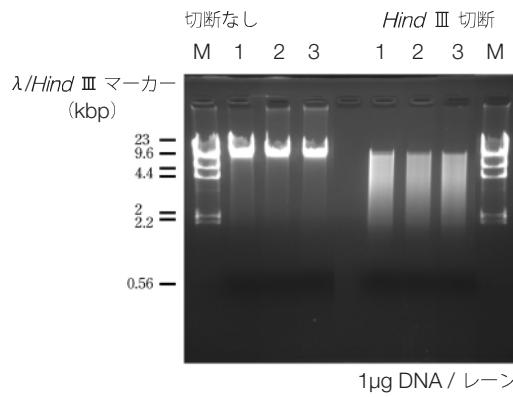
カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

• 制限酵素切断

QuickGene 分離システムおよび試薬を用いて数種の細胞株から分離したゲノム DNA の *Hind* III 制限酵素切断断片の AGE



QuickGene-810（自動核酸分離システム）および QuickGene DNA tissue kit S で分離したゲノム DNA が *Hind* III で効果的に切断された。

M : λ /Hind III digest

1 : HepG2 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

2 : Huh6 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

3 : Huh6 細胞株からのゲノム DNA (0.5×10^6 個の細胞)

■ 共通プロトコルサンプル

ラット PC-12 培養細胞、マウス ES 培養細胞

マウス HS 培養細胞からのゲノムDNA分離

プロトコル

1.5 ml マイクロチューブ中の~ 1×10^6 個の細胞



培養上清を除去し PBS で洗浄する

PBS を完全に除去する



チューブを 5 回タッピングしてペレット化した細胞を懸濁させる
PBS : 180 μ l



チューブを 5 回タッピングして溶液を混ぜる



ボルテックスでよく混ぜる : 15 秒
軽くスピンドラウ



70°C インキュベーション : 10 分
軽くスピンドラウ



ボルテックスでよく混ぜる : 15 秒
軽くスピンドラウ



ライセート完成



QuickGene のカートリッジへ全量添加



使用装置の分離プロトコル参照
QuickGene-810、p.4-3 へ
QuickGene-Mini80、p.4-10 へ
QuickGene SP kit、p.4-17 へ



ゲノム DNA 回収 (回収液量 : 200 μ l)

結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

ES 細胞の数	収量 (μ g)
1×10^5 個	約 1.0

タンパク質の混入 : A260/280

データなし

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

データなし

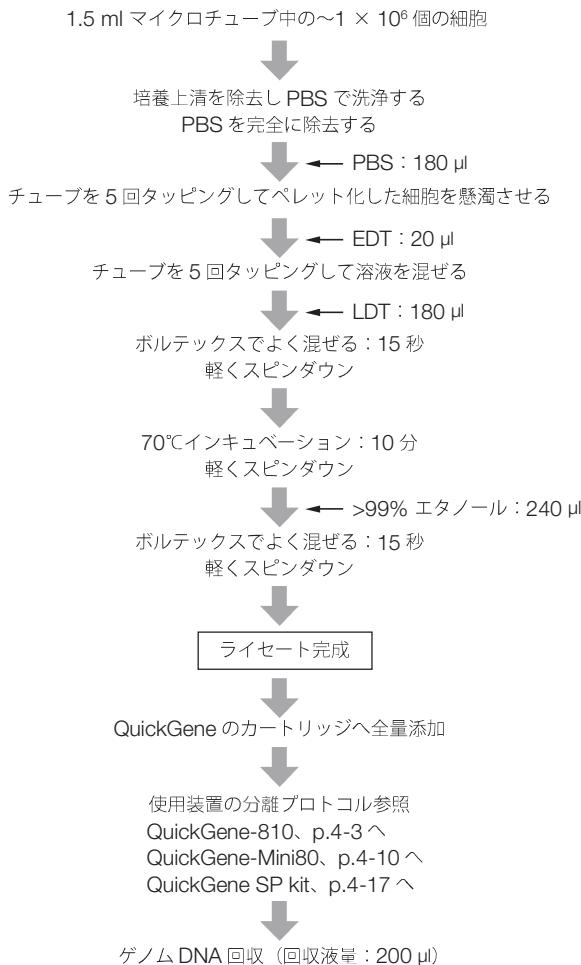
共通プロトコルサンプル

ヒト培養細胞株、ラット PC-12 培養細胞

DG-4

ラット PC-12 培養細胞からのゲノムDNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

ゲノム DNA の収量

PC-12 細胞の数	収量 (μg)
1×10^6 個	約 15.0

タンパク質の混入 : A260/280

PC-12 細胞の数	A260/280
1×10^6 個	1.45

カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

その他

データなし

共通プロトコルサンプル

ヒト培養細胞株、マウス ES 培養細胞

