

Product Application



糞便に含まれる細菌からのゲノム DNA 抽出

Kit : Maxwell® RSC Blood DNA Kit (カタログ番号 AS1400)、Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit (カタログ番号 AS1520)、Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit (カタログ番号 AS1600)

Analyses : NanoDrop、T-RFLP

Sample Type(s) : ヒト糞便

Input : 40~100mg

Protocol :

1. 40~100mgのヒト糞便を準備する。
2. 500μl TEに懸濁する。
3. 20,800×g、5分間の遠心を行い、上澄みを廃棄する。
4. 手順2-3の洗浄ステップを、さらに2回(計3回)実施する。
5. 最終的に、600μl TEに懸濁する。
6. 600μl TE飽和フェノール、100μl 10% SDS、0.3g ガラスビーズ(直径 0.15-0.21mm)を加える。
7. ビーズ破砕機にて、7,000rpmで20秒の破砕操作を行う。
8. 70℃で10分間のインキュベーションを行う。
9. 手順7-8の破砕操作を、さらに1回(計2回)実施する。
10. 600μlの上層の水相を1.5mlチューブに移す。
11. ここから300μlを以下の精製操作に用いる。

イソプロパノール沈殿法

12. 300μl イソプロパノール、30μl 3M 酢酸ナトリウムを加える。
13. 20,800×g、5分間の遠心を行い、上澄みを廃棄する。
14. 沈殿を70%エタノールで洗う。
15. エバポレーターで15分間の乾燥を行い、200μl TEに溶解する。

Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit (カタログ番号 AS1520)

Whole Blood DNAでは、そのまま添加。

Elution Bufferは60μl

Product Application

Maxwell® RSC Blood DNA Kit (カタログ番号 AS1400)

Lysis Buffer 300μl + Proteinase K Solution 30μlを加え、56℃、20分のインキュベーションをしてから
添加

Elution Bufferは50μl

Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit (カタログ番号 AS1600)

Lysis Buffer 300μlと混ぜてから、添加。

Elution Bufferは100μl

Results :

核酸濃度は、NanoDropを用いて測定した。

Whole Blood DNA Kit (約50μl回収) : 24ng/μlでA260/280=1.66

Blood DNA Kit (約50μl回収) : 35ng/μlで、A260/280=1.67

PureFood GMO and Authentication Kit (約100μl回収) : 22ng/μlで、A260/280=1.96

また、これらの回収したDNAを用いて、T-RFLP解析を実施した。

制限酵素は、AluIとMspIを用いた。

その結果、いずれのMaxwell RSCのキットでも、イソプロパノール沈殿とほぼ同じ細菌叢が確認できた。

詳細な結果にご興味があれば、プロメガ株式会社までお問い合わせください。

Conclusion :

いずれのMaxwell RSCのキットでも、イソプロパノール沈殿とほぼ同じ細菌叢が確認できた。

このことから、磁性ビーズを使った精製は、イソプロパノール沈殿に置き換えることが可能であり、自動化に有用であると言える。