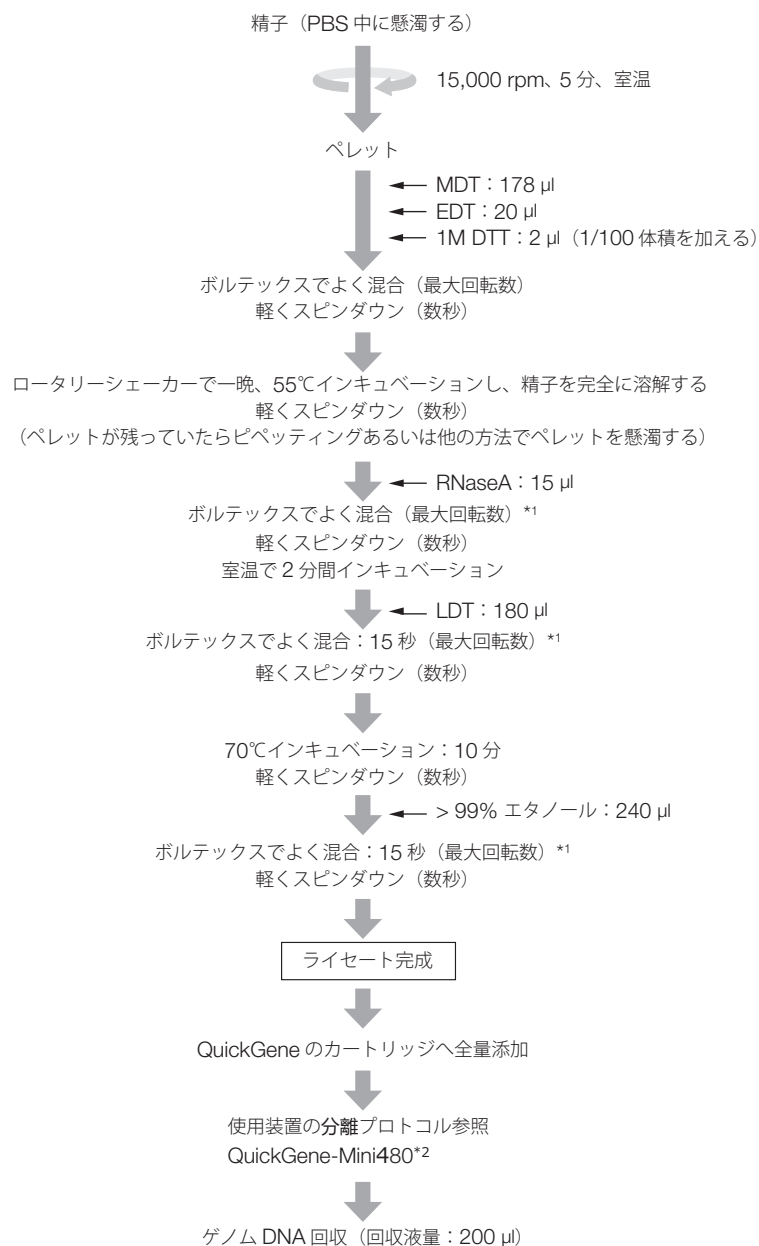


DA-c-10

# マウス精子からのゲノムDNA分離

## プロトコル



\*1 ボルテックス (最大回転数) で完全に混合してください。ボルテックスで混合不十分ならば、タッピング、ピペッティングまたは転倒混和を使用してください。

\*2 本事例は旧機種で取得したデータも含まれます。その他QuickGeneシリーズでもこのプロトコルをご参考頂けます。

## 結果

### 電気泳動図

データなし

### ゲノム DNA の収量 (µg)

精子数	2.3 × 10 <sup>6</sup>	1.1 × 10 <sup>6</sup>
QuickGene-810	3.99	3.99
フェノール/クロロホルム法	5.48	2.20

## ■ タンパク質の混入：A260/280

精子数	$2.3 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$
QuickGene-810	1.75	1.73
フェノール/クロロホルム法	1.6	1.93

## ■ カオトロピック塩の混入：A260/230

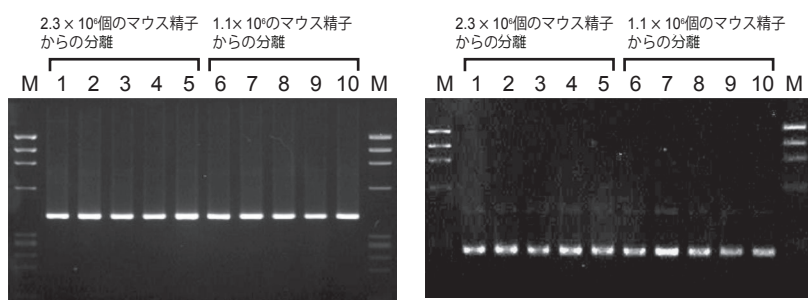
データなし

## ■ その他

## ● バイサルファイト処理と PCR

QuickGene-810システムあるいはフェノール/クロロホルム法を用いて分離されたマウス精子ゲノムDNA 1  $\mu$ gをバイサルファイト処理を施し PCR テンプレートに使用した。

バイサルファイト処理した DNA 250 ng を用いて、H19、Igf2r の DMR (Differentially methylated regions) をターゲットに PCR を効果的に行った。



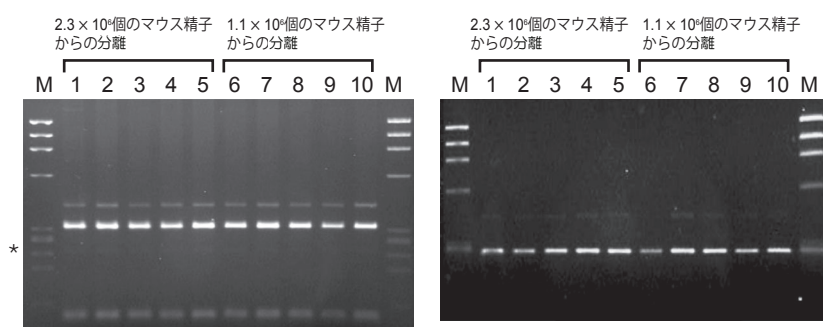
M:  $\phi$  x 174/Hae III マーカー  
1-4, 6-9: QuickGene-810  
5, 10: フェノール/クロロホルム

H19 バイサルファイト PCR 電気泳動図

Igf2r バイサルファイト PCR 電気泳動図

## ● COBRA (combined bisulfite restriction assay) による DNA メチル化解析

3) で得られた、H19 DMR、Igf2r DMR の PCR 生成物を、それぞれ制限酵素 HpyCH4IV、Csp45I により切断した。



M:  $\phi$  x 174/Hae III マーカー  
1-4, 6-9: QuickGene-810  
5, 10: フェノール/クロロホルム

H19 COBRA 電気泳動図

Igf2r COBRA 電気泳動図

H19 DMR は、ほとんど完全にメチル化されており、Igf2r DMR は脱メチル化されている。

\* バンドは非メチル化バンドを示す。

したがって QuickGene-810 で分離した精子 DNA はフェノール/クロロホルム分離法と同様に、メチル化部分を保ったまま分離できることが確認された。

## ■ 共通プロトコルサンプル

データなし