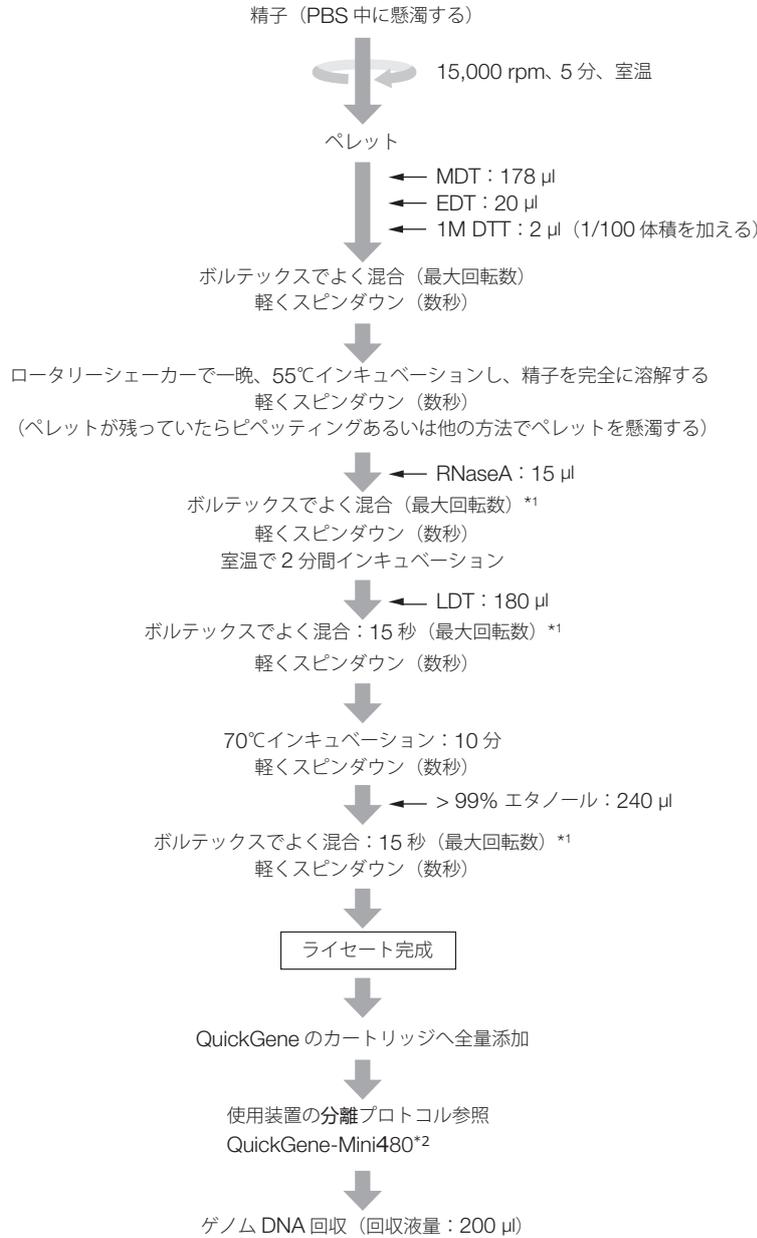


DA-c-10

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 ⁶	1.1 × 10 ⁶
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	2.3×10^6	1.1×10^6
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

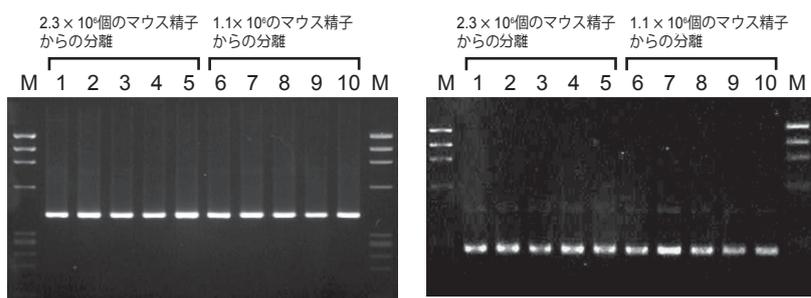
データなし

■ 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 μ 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。



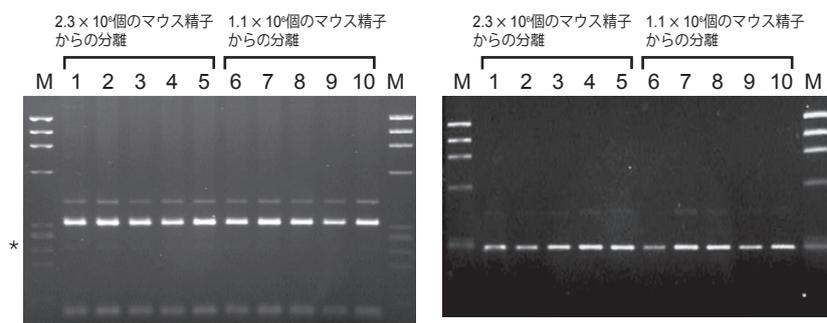
M: ϕ x 174/Hae III マーカー
1-4, 6-9: QuickGene-810
5, 10: フェノール/クロロホルム

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: ϕ 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