



Application

DNA Save ペーパーを用いた マイコプラズマ培養液由来DNAの抽出および保存

製品名

FastGene™ DNA Save ペーパー (Cat.No. FG-GDS4)

メーカー名

日本ジェネティクス株式会社

下記データは、道立総合研究機構畜産試験場家畜衛生グループ 山口英美様のご厚意により掲載させていただきました。

FastGene™ DNA Save ペーパー

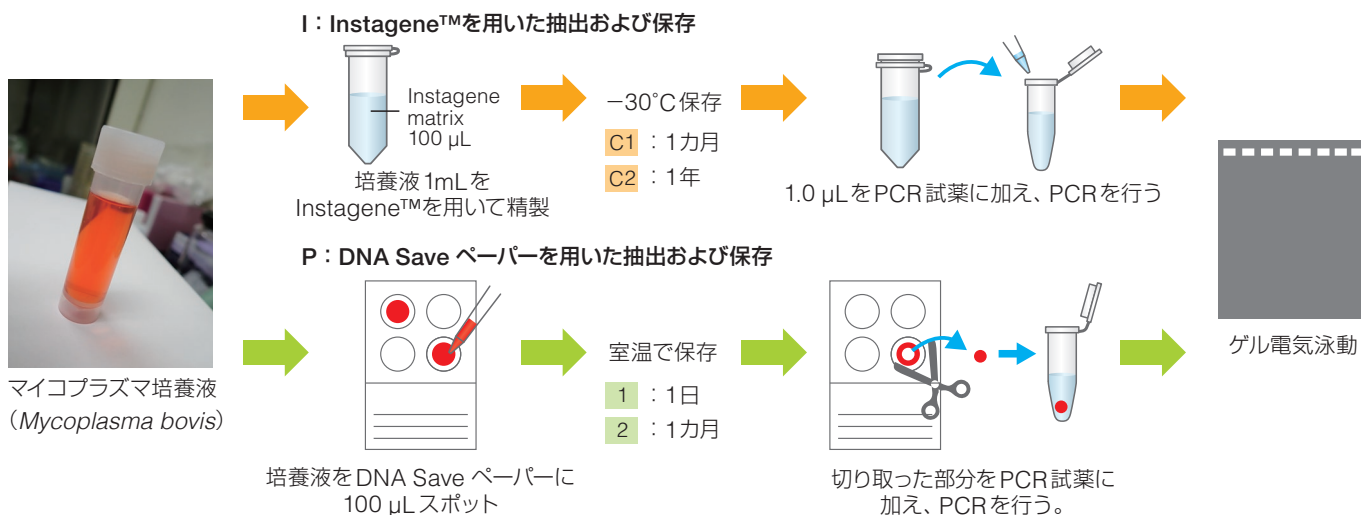
特長

- 常温での長期間の安定的なDNA保管が可能
- 洗浄ステップ不要のダイレクトPCR分析が可能



実験フローチャート

本実験では、DNA Save ペーパーを評価対象として、Instagene™(BIORAD #7326030) で抽出・精製を行った。

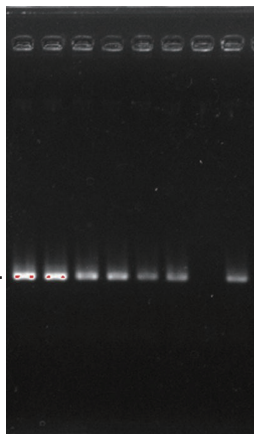


結果

サンプル	C1	1	2	C2
方法*	I	P	P	I
保存期間	1カ月	1日	1カ月	1年
PCR テンプレート	+	+	+	+
レーン	1	2	3	4
	5	6	7	8

* I : Instagene™を用いた抽出および保存
P : 菌液を DNA Save ペーパーを用いた抽出および保存

増幅ターゲット : 16SrRNA
PCR 産物サイズ : 1500 bp



● 結果

DNA Save ペーパーで保存した場合においても、Instagene™精製後 PCR 増幅した場合と同じ分子サイズの PCR 産物が増幅された。

〈注意〉

本実験は、菌数などテンプレート量を管理して PCR を行ったデータではないため、バンド輝度に基づく DNA 量の情報を比較できない点にはご注意ください。

**● 結論**

- DNA Save ペーパーにスポットするだけで、マイコプラズマのDNAをPCRで増幅可能な状態にすることができた。
 - かつ、この状態のまま、マイコプラズマDNAの保存が可能であることがわかった。
- ※特定の保存期間を保証する結果ではない点にご注意ください。

**お客様のコメント**

ペーパーの上に試料液を落とすだけで、マイコプラズマよりDNAを抽出し、保存できたので、非常に楽でした。また、紙として保存するので、冷凍庫のスペースをとらないことが便利で、博物資料など、それなりの量を長期保存する場合などに良いと思います。

詳細実験条件および試薬・器具情報**● マイコプラズマ (*Mycoplasma bovis*) 培養**

培養液 : Hayflick 液体培地
 培養液量 : 5 mL
 容器 : 15ml 遠濾管 (Trueline® #TR2001, FastGene #FG400)
 培養方法 : -80℃保存菌株よりニードルで釣菌し、37℃培養液中で3日間培養した。

● PCR反応液組成

KAPA2G™ Fast HotStart ReadyMix with dye	5	μL
蒸留水	3	μL
10 μM Forwardプライマー	0.5	μL
10 μM Reverseプライマー	0.5	μL
PCRテンプレート	1	μL

反応液 10 μL

※DNA Save paper をサンプルとした場合は、蒸留水を1 μL添加。

● PCRサイクル

95°C, 3 min
 ↓
 (95°C, 15 sec → 60°C, 15 sec → 72°C, 5 sec) ×35サイクル
 ↓
 72°C, 1 min
 ↓
 12°C, ∞

● PCR装置

PCR装置名 : Biorad icycler

● 電気泳動条件

ゲル : 1.5%アガロースゲル
 バッファー : TAE
 泳動条件 : 100 V, 30分
 核酸染色試薬 : エチジウムブロマイド
 ゲル撮影装置 : Gel Doc™ XR+ (BIORAD #1708195)

担当者の一言 (日本ジェネティクス)

これまでDNA Save ペーパーは、血液サンプル由来のDNA抽出・保存において使用可能であることは検証済みとなっております。本アプリケーションノートにおいて、DNA Save ペーパーが、マイコプラズマにおいても使用可能であることがわかりました。このことは、DNA Save ペーパーが、幅広い細胞種のDNAを抽出・保存ができるアプリケーションである可能性を示しています。

本文中に記載されているTMおよび®それぞれは、各社の商標、登録商標を表しています。