



Technical Data

Jurkat細胞を用いた FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）評価試験

評価製品

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）
（FastGene™, Cat.No. FG-GD050C）

目的

Jurkat細胞からゲノムDNA（以下gDNA）を抽出し、
FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）の性能を評価する。

実験概要

一般的なDNA抽出キットに含まれるスピカラムには、シリカメンブレンが使用されているが、スピカラムのフィルターに溶液が残りやすく、デッドボリュームが大きいという課題がある。

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）のスピカラムには、次世代の分離媒体として注目されているシリカモノリスが使用されている。シリカモノリスは、ケイ酸エチルから合成された一体型の超高純度シリカゲルで、均一な細孔が無数に開いている網目状構造をもっている。この構造により、大きな通液空間と広い表面積を有するため、シリカメンブレンよりも圧倒的に通液性が良く、デッドボリュームも小さいため、より効率的に核酸精製が可能である。

本テクニカルノートでは、Jurkat細胞を用いてgDNAの抽出を行い、スピカラムの材質がシリカメンブレンである他社gDNA抽出キットの結果と比較することで、本製品の性能評価を行った。

評価方法

● サンプル

1×10⁶ Jurkat細胞 (n=3)

● 使用キット

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）
Q社 gDNA抽出キット

● 評価項目

各キットの取扱説明書に従って抽出したgDNAを、以下の項目において比較・検討した。

- ① 工程数, 操作時間
- ② 収量
- ③ 純度
- ④ アガロースゲル電気泳動
- ⑤ PCRによる目的のアンプリコンサイズの確認

製品紹介

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（培養細胞）

培養細胞（～1×10⁷細胞）からのゲノムDNA抽出キットです。

洗浄バッファ（Buffer C2）にはエタノールが含まれているため、別途エタノールを添加する必要がありません。

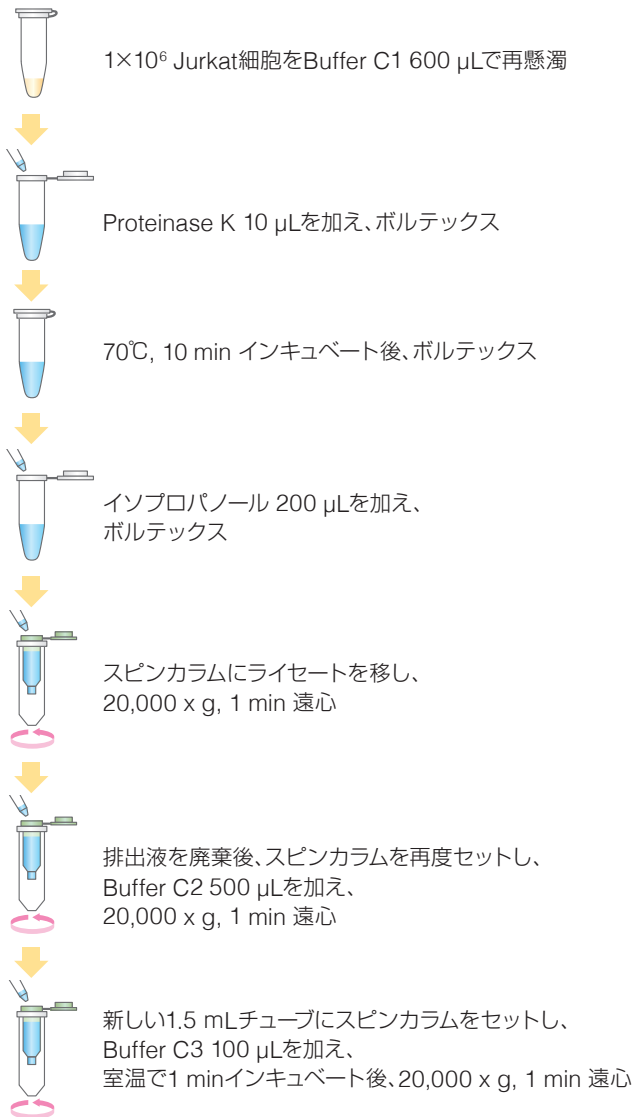


● キット構成内容

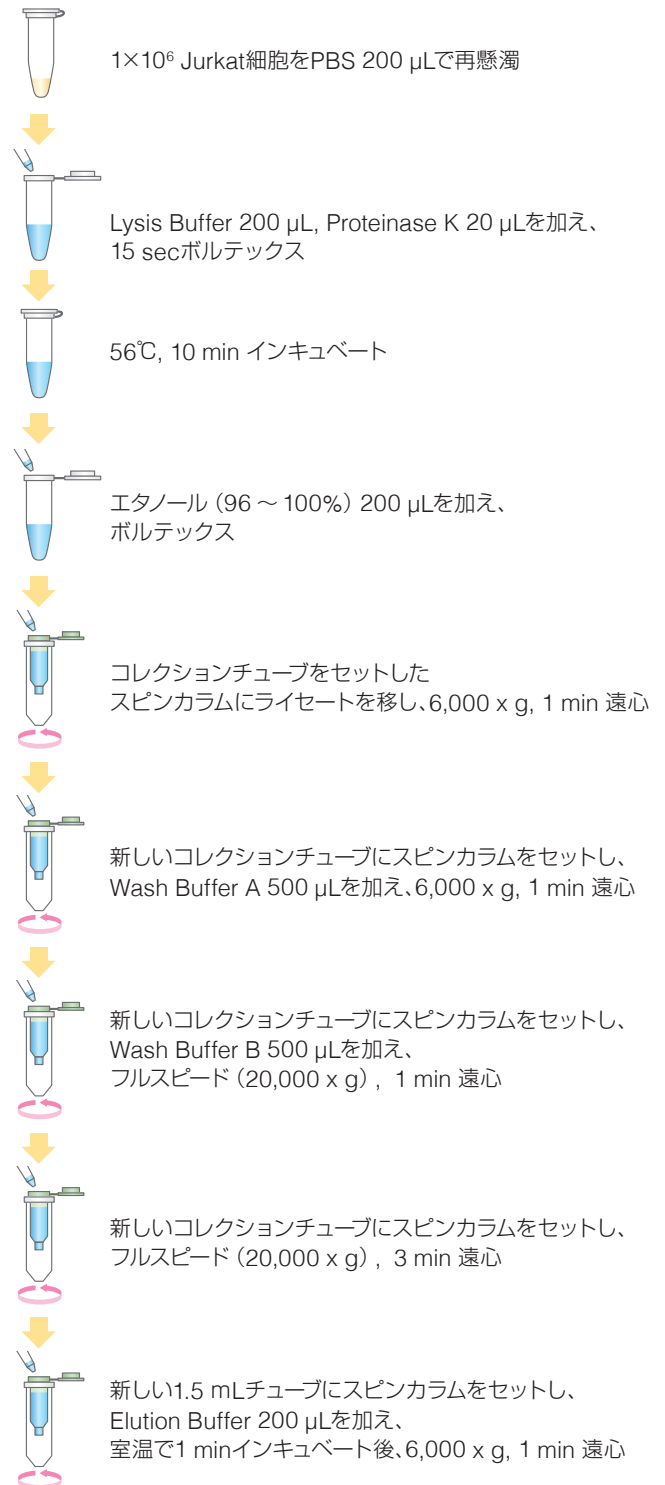
- スピカラム
- Buffer C1（溶解／吸着）
- Buffer C2（洗浄）
- Buffer C3*（溶出）
- Proteinase K（20 mg/mL）
- *10 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA (pH 8.5)

● 各キットの操作方法

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (培養細胞)



Q社 gDNA抽出キット



結果

① 工程数, 操作時間

キット	工程数	操作時間 (n=3抽出時)
FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (培養細胞)	7	30 min 30 sec
Q社 gDNA抽出キット	9	41 min 30 sec

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (培養細胞) は、洗浄工程における操作が少ないため、Q社 gDNA抽出キットよりも短時間で、gDNAを抽出することができた。

② 収量

Qubitによる測定 (n=3の平均を算出)

キット	Conc. (ng/μL)	Elution (μL)	Yield (ng)
FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (培養細胞)	41.8	100	4180
Q社 gDNA抽出キット	29.4	200	5880

装置 : Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Cat.No. Q33238)

キット : Qubit dsDNA BR Assay Kits (Thermo Fisher Scientific, Cat.No.Q32850)

収量はQ社 gDNA抽出キットよりも低いが、ダウンストリームのアプリケーションに使用するには十分な濃度のgDNAを得ることができた。

③ 純度

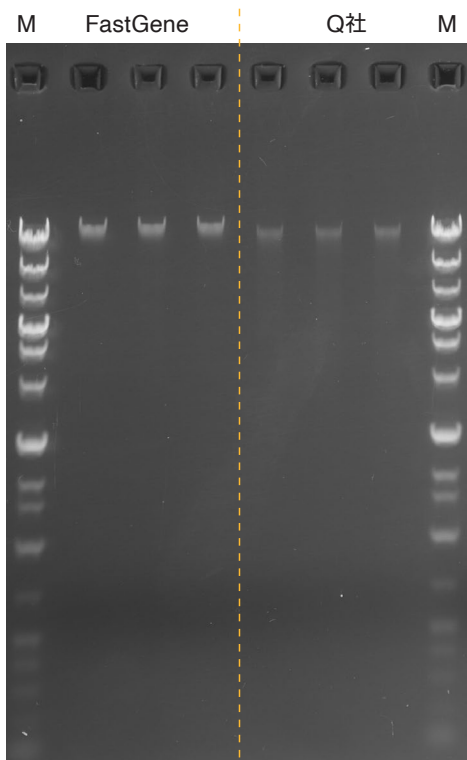
NanoDrop One[®]による測定 (n=3の平均を算出)

キット	A260/A280	A260/A230
FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (培養細胞)	1.97	2.24
Q社 gDNA抽出キット	1.97	2.27

装置 : NanoDrop One[®] (Thermo Fisher Scientific, Cat.No. ND-ONEC-W)

A260/A280とA260/A230はいずれもQ社 gDNA抽出キットと同等の結果だった。

④ アガロースゲル電気泳動



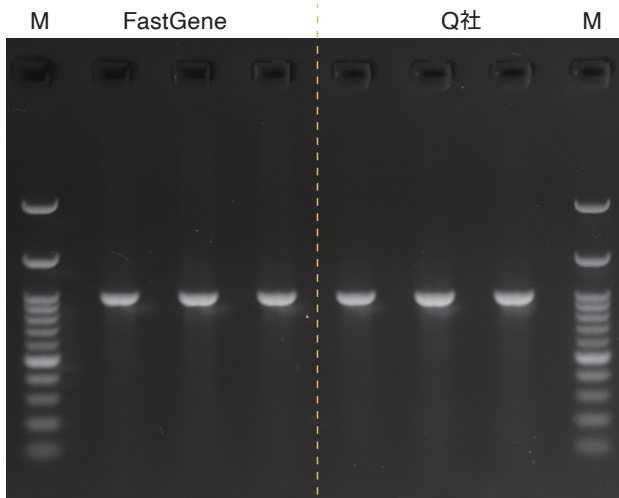
gDNAのバンドを確認することができた。

● 電気泳動条件

- ゲル : 1.0 % アガロースゲル
- バッファー : 1 × TAE
- 泳動条件 : 100 V, 60 min
- 泳動槽 : SafeBlue Illuminator/ Electrophoresis System (Major Science, Cat.No. MBE-150-PLUS)
- 核酸染色試薬 : Midori Green Xtra (FastGene, NE-MG10), 先染め染色法
- DNAマーカー : Gene Ladder wide 1 (0.1 – 20 kbp) (ニッポンジーン, Cat.No. 313-06961)
- 撮影装置 : FAS-Digi Compact (日本ジェネティクス株式会社, Cat.No. GP-08LED)
- 撮影条件 : F=5.6, Exposure 1.3 sec, ISO=100

⑤ PCRによる目的のアンプリコンサイズの確認

KAPATaq Extra Hot Start ReadyMix with dye (KAPA BIOSYSTEMS, Cat.No. KK3606) を用いて、アンプリコンサイズ 986 bp の PCRを行った。



● 電気泳動条件

- ゲル : 1.5 % アガロースゲル
- バッファー : 1 x TAE
- 泳動条件 : 100 V, 25 min
- 泳動槽 : SafeBlue Illuminator/ Electrophoresis System (Major Science, Cat.No. MBE-150-PLUS)
- 核酸染色試薬 : Midori Green Xtra (FastGene, NE-MG10), 先染め染色法
- DNAマーカー : 100bp DNA Ladder PLUS (FastGene, Cat.No. NE-MWD100P)
- 撮影装置 : FAS-Digi Compact (日本ジェネティクス株式会社, Cat.No. GP-08LED)
- 撮影条件 : F=5.6, Exposure 1/3 sec, ISO=200

すべての抽出gDNAで目的サイズの増幅が確認され、PCR阻害等の問題は無かった。

まとめ

FastGene™ ゲノムDNA抽出キット(培養細胞)は、洗浄工程の工程が少なく、短い操作時間でgDNAを抽出することができた。また、スピнкаラムの液切れが良いため、スピнкаラムの乾燥工程である空遠心を行わなくても、不純物やバッファーを効率よく除去することができる製品である。

補足

PCRによる目的のアンプリコンサイズの確認におけるPCR条件

● 反応液組成

Component	Volume
2X KAPA Taq Extra HotStart Ready Mix with dye	5 μ L
10 μ M Forward Primer	0.2 μ L
10 μ M Reverse Primer	0.2 μ L
Template DNA	2 μ L
PCR-grade water	2.6 μ L
Total	10 μ L

● 反応条件

Step	Temperature	Time	Cycle
Initial Denaturation	95°C	3 min	-
Denaturation	95°C	30 sec	35 Cycles
Annealing	60°C	30 sec	
Extension	72°C	1 min	
Final Extension	72°C	1 min	-
Hold	4°C	∞	-

● プライマー

human actin beta (ACTB) gene
 Forward Primer : 5' -GGCCATGAGGCTGGTGTTAA-3'
 Reverse Primer : 5' -CTGGATGTGACAGCTCCCCA-3'
 アンプリコンサイズ : 986 bp