



Technical Data

## レタスとホウレンソウの葉を用いた FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物) 評価試験

評価製品

FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)  
(FastGene™, Cat.No. FG-GD050P)

目的

レタスの葉とホウレンソウの葉からゲノムDNA (以下gDNA) をそれぞれ抽出し、FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物) 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ンカラムには、シリカメンブレンが使用されているが、スピン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 (植物) のスピンカラムには、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保てるため、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、レタスの葉とホウレンソウの葉を用いてそれぞれgDNAの抽出を行い、スピン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

レタスの葉、ホウレンソウの葉 (各 100 mg, n=3)

#### ● 使用キット

FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)  
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 (植物)

植物サンプル (~200 mg) からのゲノムDNA抽出キットです。

洗浄バッファー (Buffer P4) 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。



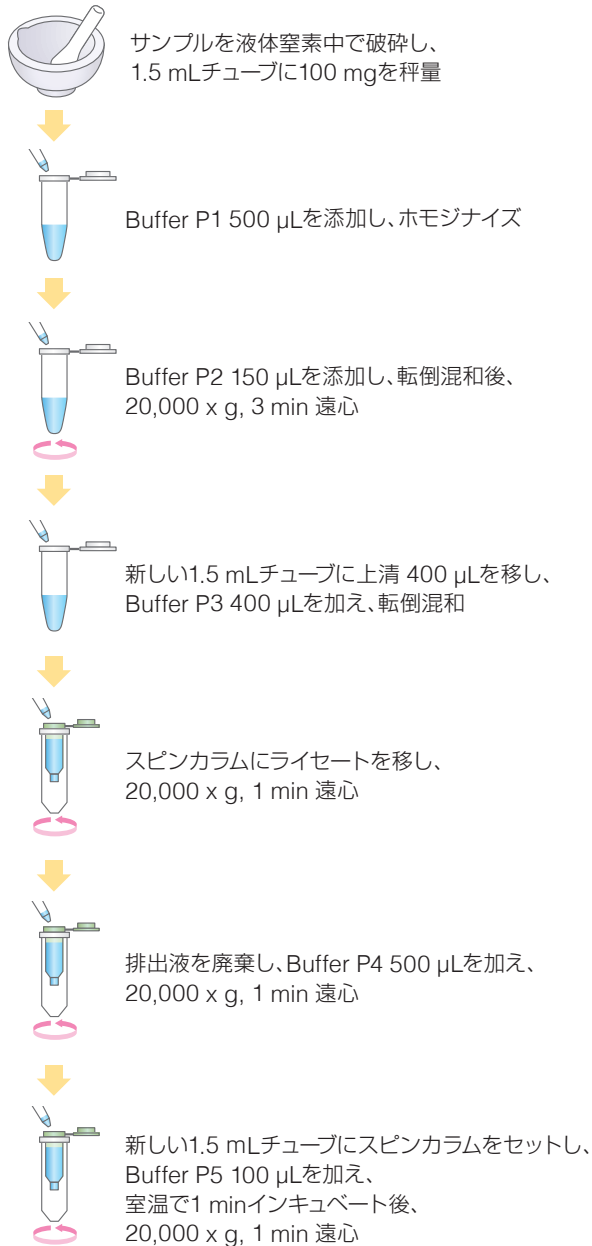
#### ● キット構成内容

スピンカラム  
Buffer P1 (溶解)  
Buffer P2 (変性)  
Buffer P3 (吸着)  
Buffer P4 (洗浄)  
Buffer P5\* (溶出)

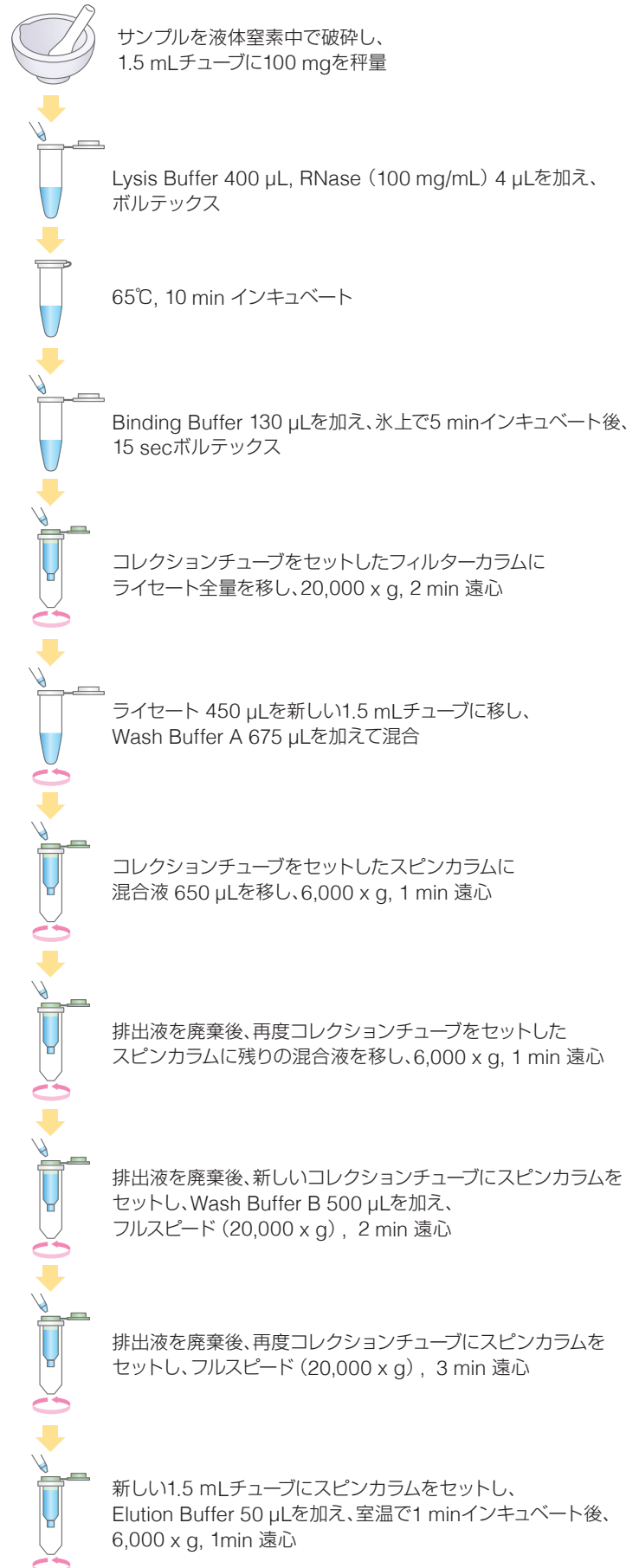
\*10 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA (pH 8.5)

## ● 各キットの操作方法

## FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)



## Q社 gDNA抽出キット



## 結果

### ① 工程数, 操作時間

各キットの操作手順は以下のとおり。

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 (植物)	7	30 min 30 sec
Q社 gDNA 抽出キット	11	1 H 11 min

\*サンプルの破碎にかかる時間を含まない。

Q社 gDNA抽出キットでは、RNase処理が必須であるため、工程数が多い。

しかし、RNase処理にかかる時間を考慮しても、FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)の方が、溶解工程と洗浄工程における操作が少なく、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	レタス			ホウレンソウ		
	Conc. (ng/μL)	Elution (μL)	Yield (ng)	Conc. (ng/μL)	Elution (μL)	Yield (ng)
FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)	26.2	100	2620	9.8	100	980
Q社 gDNA 抽出キット	13.0	100	1300	11.9	100	1190

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)

Q社 gDNA抽出キットと同等以上のgDNAを回収することができた。

### ③ 純度

NanoDrop One<sup>c</sup>による測定 (n=3の平均を算出)

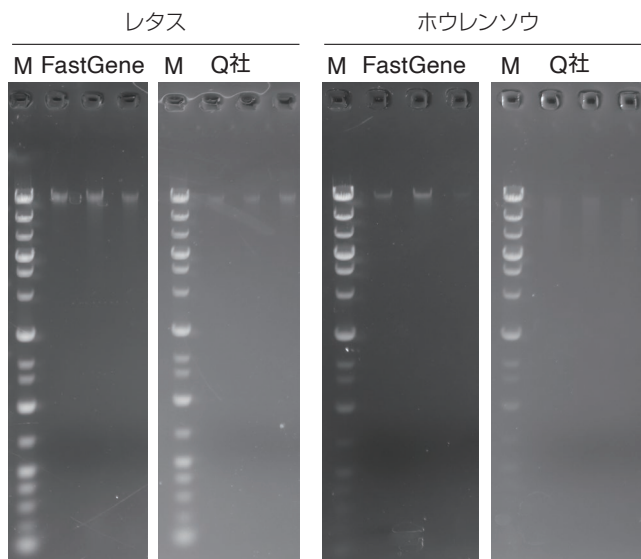
キット	レタス		ホウレンソウ	
	A260/A280	A260/A230	A260/A280	A260/A230
FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)	1.97	2.17	2.34	1.21
Q社 gDNA 抽出キット	1.73	1.51	1.50	1.48

装置 : NanoDrop One<sup>c</sup> (Thermo Fisher Scientific, Cat.No. ND-ONEC-W)

FastGene™ ゲノムDNA 抽出キット (植物)は、A260/280の値が高く、RNAが残存している可能性がある。

Q社 gDNA抽出キットでは、RNase処理が必須のプロトコルになっているため、A260/280の値に差が生じたと考えられる。

### ④ アガロースゲル電気泳動



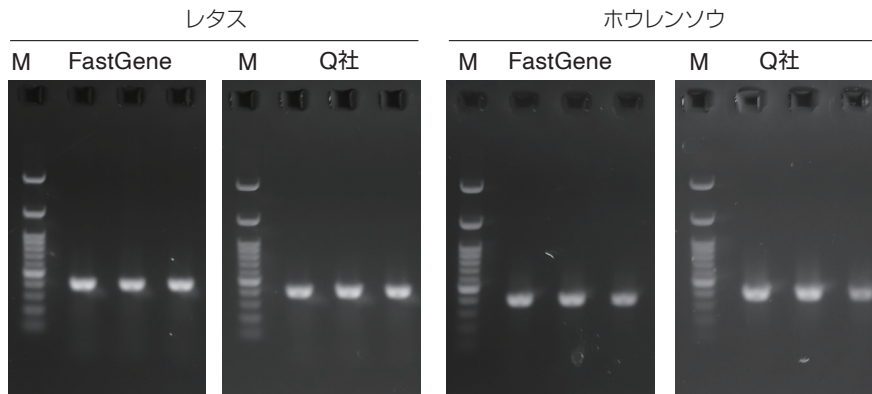
gDNAのバンドを確認することができた。

#### ● 電気泳動条件

- ゲル : 1.0 % アガロースゲル
- バッファー : 1 x 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 (日本ジエネティクス株式会社, Cat.No. GP-08LED)
- 撮影条件 : F=5.6, Exposure 1.6 sec, ISO=125

### 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約 350 ~ 400 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(植物)は、溶解・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、スピニングカラムの液切れが良いため、スピニングカ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。しかし、使用するサンプルや目的のアプリケーションによっては、別途RNase処理を行う必要があると考えられる。

#### 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 $\mu$ L
25 $\mu$ M Forward Primer	0.2 $\mu$ L
25 $\mu$ M Reverse Primer	0.2 $\mu$ L
Template DNA	2 $\mu$ L
PCR-grade water	2.6 $\mu$ L
Total	10 $\mu$ 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	$\infty$	-

#### ● プライマー

植物異物同定用プライマーセット (FASMAC #F111-1K)  
アンプリコンサイズ : 350 ~ 400 bp