



Technical Data

ハイスループット自動DNA断片ゲル抽出システム PippinHT™ 製品評価

評価製品

PippinHT™ (sage science, Cat.No. HTP0001)

目的

PippinHT™ を用いたDNA断片の分画性能を検証する。

評価方法

コントロールDNAを使用して、1.5%ゲルカセットで400 bpのサイズセレクションを行った。分画条件を3パターン設定し、それぞれの分画条件で分画されるサイズと回収量を確認した。併せてサイズマーカーの方式（インターナル/エクスターナル）の違いによるサイズ、回収量の差を検証した。



PippinHT™

試薬

- 1.5% Dye Free for 300-1500 bp, Internal Standards, 15C (Cat.No.HTC1510)
- DNA for Validation of 1.5% Agarose Cassettes, 48 loads (Cat.No.CDH1504)



分画実験条件

レーン	サンプル	Start (bp)	End (bp)
1	Control DNA + Marker (Internal)	300	500
2			
3		350	450
4			
5		250	550
6			
7	Marker (External)	300	500
8	Control DNA		
9	Marker (External)	350	450
10	Control DNA		
11	Marker (External)	250	550
12	Control DNA		

◆ 泳動条件

- ・ゲルカセット : 1.5% Dye Free
- ・マーカー : 15C
- ・モード : Range Mode
- ・ターゲット : 400 bp

◆ マーカー

- ・レーン1~6 : インターナルマーカーとして使用*
 - ・レーン7~12 : エクスターナルマーカーとして使用
- *レーン2, 4, 6は、それぞれレーン1, 3, 5のマーカーをもとに分画される

◆ サイズ設定

- ・400±100 bp (メーカー推奨条件**)
 - ・400±50 bp
 - ・400±150 bp
- **コントロールDNAで、400 bpをターゲットとした場合のメーカー推奨条件

◆ アプライ量 (全量 25 µL, コントロールDNAインプット量492.0 ng)

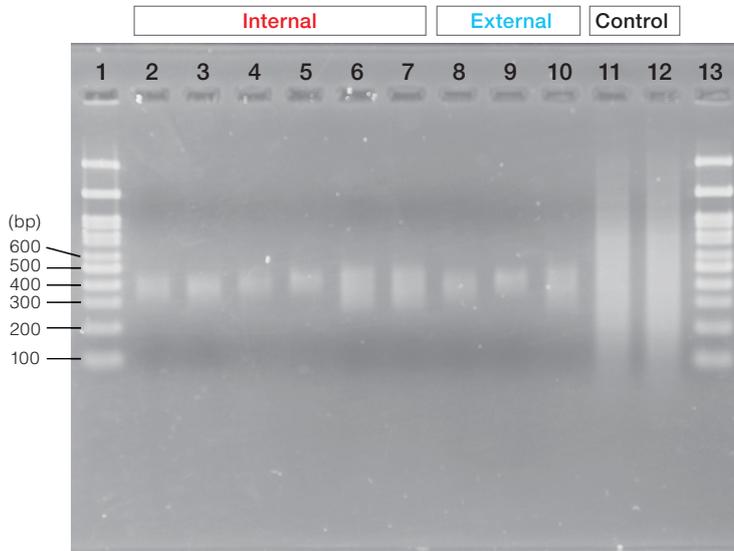
- ・レーン1~6 : コントロールDNA 20 µL+マーカー 5 µL
(インターナルマーカーレーン)
- ・レーン7, 9, 11 : マーカー 5 µL+ 10 mM Tris-HCl 20 µL
(エクスターナルマーカーレーン)
- ・レーン8, 10, 12 : コントロールDNA 20 µL+ Loading Solution 5 µL
(エクスターナルマーカーレーン)

◆ 溶出量 30 µL (取扱説明書準拠)

結果

① 電気泳動

電気泳動で分画サイズを確認 (溶出量 30 μ L 中 5 μ L 使用)



【泳動条件】

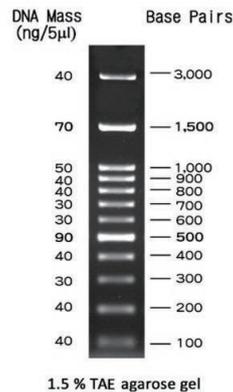
アガロースゲル濃度 : 1.0 %
 電圧 : 100 V
 泳動時間 : 25分
 泳動 Buffer : 1 x TAE
 泳動槽 : Mupid®-exU
 染色条件 : Midori Green Xtra
 (FastGene™ Cat.No. NE-MG10)
 (後染め、30分)

【撮影条件】

FAS-Digi PRO
 (日本ジェネティクス株式会社 Cat.No.GP-07LED)
 ISO 感度 : Auto, Exposure time : 1sec, Aperture : 5.6

レーン サンプル

- 1・13 : 100 bp DNA Ladder (FastGene™)
 2 : 400±100 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン1
 3 : 400±100 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン2
 4 : 400±50 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン3
 5 : 400±50 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン4
 6 : 400±150 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン5
 7 : 400±150 bp (Internal Marker), 分画実験条件レーン6
 8 : 400±100 bp (External Marker), 分画実験条件レーン8
 9 : 400±50 bp (External Marker), 分画実験条件レーン10
 10 : 400±150 bp (External Marker), 分画実験条件レーン12
 11 : Control DNA (5倍希釈)
 12 : Control DNA (原液)



100 bp DNA Ladder
 (FastGene™ Cat.No.NE-MWD100)

② 回収した分画の濃度測定

		濃度 (ng/ μ L)	回収量 (ng)
400±100 bp (推奨条件)	Internal Marker	3.6	108.9
	External Marker	3.8	114.6
400±50 bp	Internal Marker	2.3	68.7
	External Marker	2.6	76.8
400±150 bp	Internal Marker	5.6	166.5
	External Marker	4.3	127.8

Internal Marker : n=2の平均値
 External Marker : n=1

測定機器 : Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (ThermoFisher Scientific)

まとめ

- 400±100 bp (メーカー推奨)、400±50 bp、400±150 bp のいずれの条件でも、機器のサイズセレクションの設定通りに分画することができた。
- 分画サイズや回収量は、インターナルマーカー、エクスターナルマーカーどちらの使用方法でも、ほとんど変わらないことが分かった。