



Application

Pippin Pulseによる長鎖DNA (100kb) の電気泳動結果

製品名 パルスフィールド電気泳動パワーサプライ Pippin Pulse (PPI0200)

メーカー名 セージ サイエンス
Sage Science社

このアプリケーションノートは、国立遺伝学研究所 比較ゲノム解析研究室 のお客様のご厚意により掲載させていただきました。ここに深く感謝申し上げます。

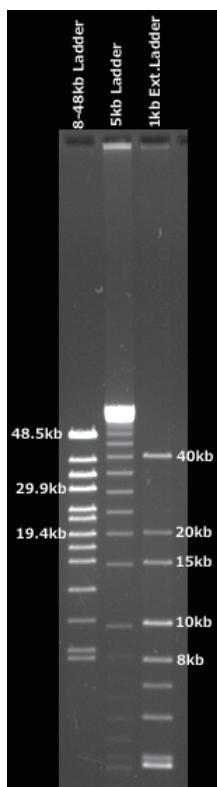
背景

パルスフィールド電気泳動は、長鎖DNA を解析する方法である。通常、一般的な定電流を用いた電気泳動では、10-15kb 以上の長鎖DNA断片を泳動しようとすると、バンドがテーリングしてスミアになるなど、分離が不十分になり、うまく泳動できない場合がある。この問題を解決するために開発されたパルスフィールド電気泳動は、電気泳動中に電界の方向を切り替えることで、長鎖DNA 断片をより精度よく分離しゲルに展開することが可能である。

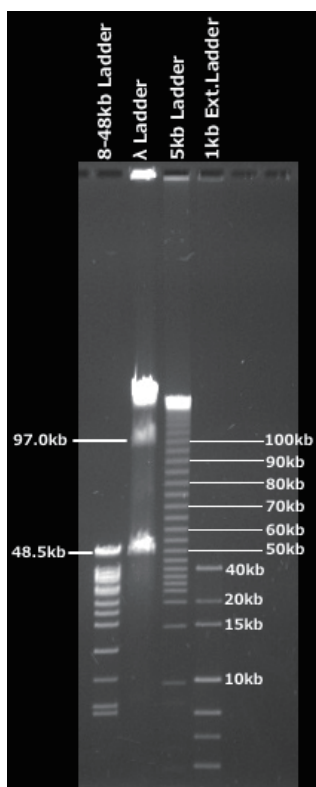
今回、簡便で使いやすいパルスフィールド電気泳動パワーサプライPippin Pulse を用いて、長鎖DNA (100kb) の泳動において、精度よく分離できるかどうかの評価を行った。

PippinPulse 泳動結果

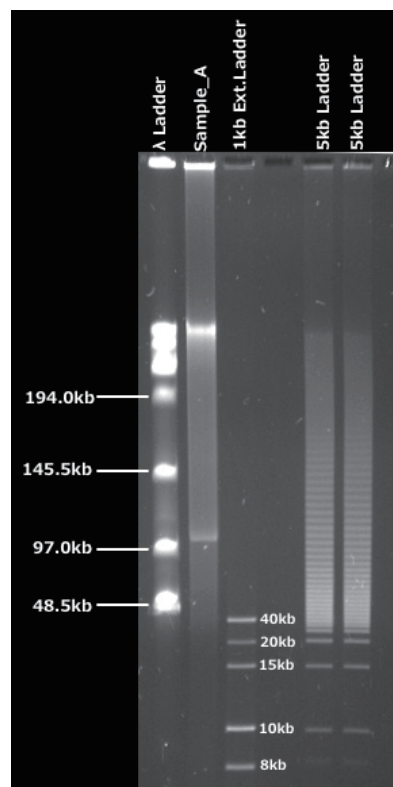
各種長鎖解析用 DNA マーカーを Pippin Pulse のプリセットプロトコルを用いて泳動した結果、十分な解像度で分離できていることがわかった。



(1) Pre-set protocol 10-48kb
95V, 16hr
0.75% SeaKem GOLD,
0.5xTBE



(2) Pre-set protocol 5-80kb
95V, 16hr,
0.75% SeaKem GOLD,
0.5xTBE



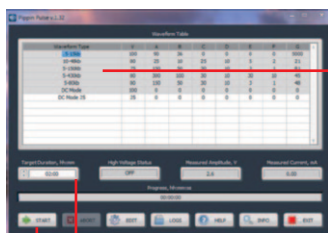
(3) Pre-set protocol 5-150kb
100V, 16hr
0.75% SeaKem GOLD
0.5xTBE

レーン	マーカー
8-48kb	CHEF DNA Size Standards, 8-48kb Ladder (200ng/well) Bio Rad (Cat No.170-3707)
λ	Lambda Ladder PFG Marker (250ng/well) NEB (Cat.No. N0340S) #discontinued
5kb	CHEF DNA Size Standards, 5kb Ladder (100ng/well) Bio Rad (Cat No.170-3624)
1kb EXT.	1kb Extension Ladder (200ng/well) Invitrogen (Cat No.10511-012)

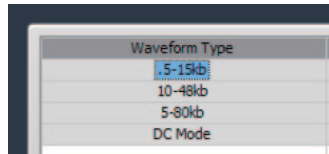
泳動条件	
染色試薬	エチジウムブロマイド1万倍希釈
ゲルの大きさ	縦150mm×横150mm
コーム1wellあたりの大きさ	1mm厚×5mm幅 (19検体用コーム)
ゲルの量	110ml
泳動槽	日本エイドー NB-1011
イルミネーター	UV
撮影装置	ATTO社 AE6932GXN-U
f値	2から4
露光時間	1/5 sec

実験手順

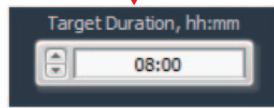
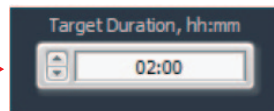
1. ゲルシステムをセットアップ (ゲル作製、サンプルロード) する。
2. PCとPippin PulseをUSB接続し、それぞれの電源をONにする。
3. PCのデスクトップにあるPippin Pulse Iconをダブルクリックしてアプリケーションを立ち上げる。



4. クリックしてプロトコルを選択する。



5. ラン時間の設定を行う。
(デフォルトは2時間に設定されている)



6. スタートをクリックする。(※)



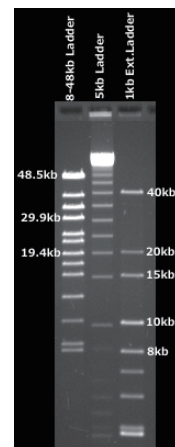
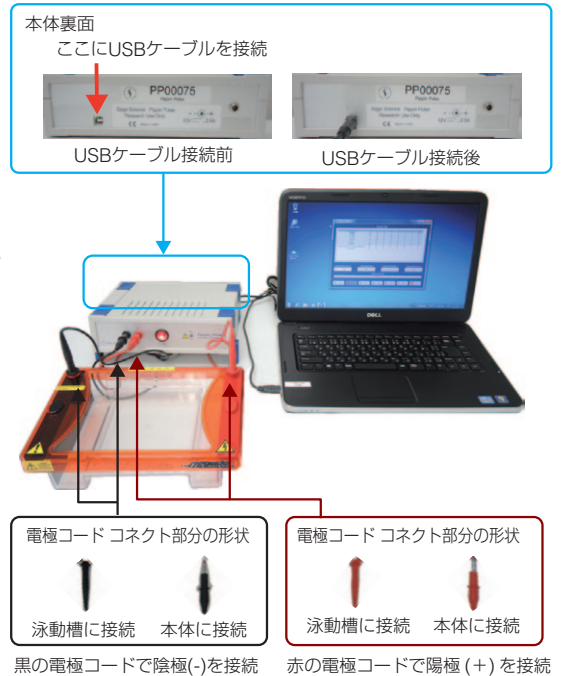
7. 泳動が完了したらゲルを解析する。

※注意：泳動中のPCトラブルを避けるために、下記の設定に注意。

- PCの電源ケーブルの接続
- 省電力設定のスリープをOFFに設定
- Windows updateをOFFに設定

【接続図】

※ 使用例 MidiPlus2 水平式電気泳動槽



お客様のコメント

Pippin Pulseは他社パルスフィールド電気泳動装置と比べ、簡便な操作が可能であり、100kbまで十分な分離性能が確認できた。