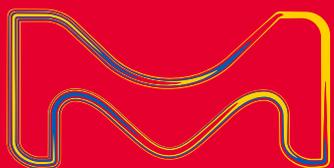


Sigma-Aldrich

ゲノムDNA精製&ダイレクトPCRキット カタログ2017



The life science business of Merck
operates as MilliporeSigma in the
U.S. and Canada

MERCK

目次

ゲノム DNA 精製

哺乳類用（培養細胞・組織サンプル用）	3
血液サンプル用	5
植物サンプル用	7
細菌サンプル用	9
その他サンプル用	11

ダイレクト PCR

哺乳類サンプル用	13
哺乳類サンプル リアルタイムPCR用	15
血液サンプル用	16
植物サンプル用	18
種子サンプル用	20
ダイレクトPCRキット補充用試薬	21

関連製品

DNA抽出関連試薬	22
-----------	----

哺乳類用 (培養細胞・組織サンプル用) GenElute™ (ジーンエリュート) Mammalian Genomic DNA Miniprep Kits

各種哺乳動物サンプルからのゲノムDNAの抽出に

GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kitは哺乳動物の細胞や組織から高分子量DNAをシリカメンブレンとスピнкаラムを組み合わせることにより、簡便に高純度で精製することができるキットです (Fig. 1、2)。哺乳動物の細胞や組織をカオトロピック塩を含むバッファー中で溶解させ、高分子成分を確実に変性させます。続いてDNAをメンブレンに結合させ、残りのライセートを遠心により除去します。洗浄して夾雑物を除去した後、バッファーでDNAを溶出して回収チューブ中に回収します。得られた精製DNAは、シークエンシング、クローニング、プロットティング、制限酵素処理 (Fig. 3)、ライゲーションおよびPCRなどの各種実験に用いることができます。

特長と利点

- 回収量は、 2×10^6 個の培養細胞から25 μ g、または組織25 mgから30 μ g (Fig. 4)
- 細胞溶解後20分以内で A_{260}/A_{280} が1.6 ~ 1.9の高純度ゲノムDNAを精製可能
- 機械的なホモジネーションは不要

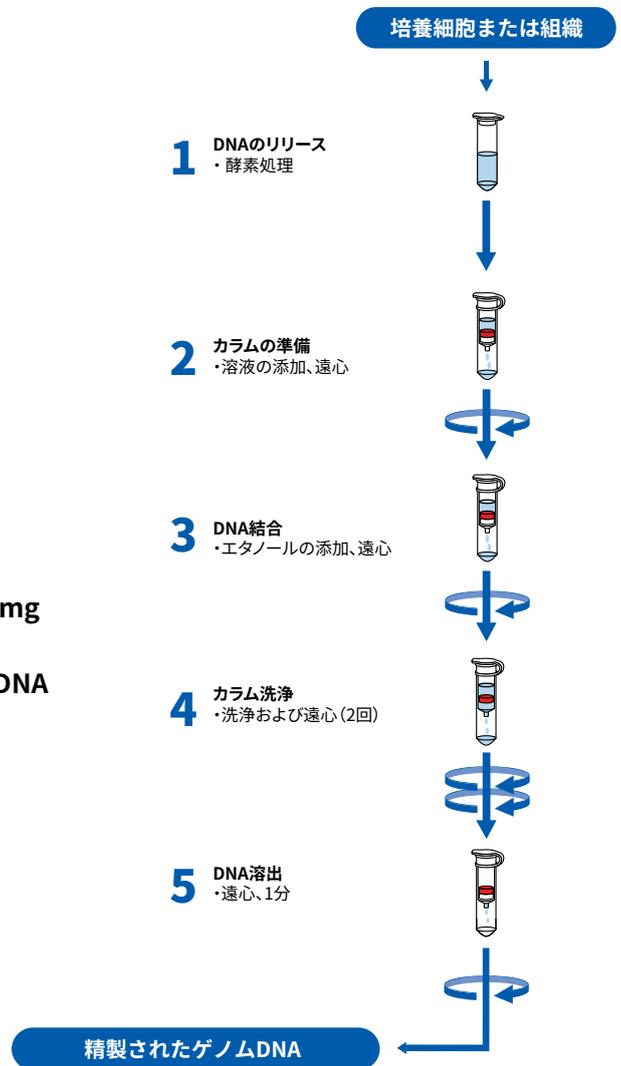


Table 1. GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep KitによるDNA収量 (RNase & Proteinase K処理済)

サンプルの種類	サンプル量	収量
Jurkat Cells (human)	2×10^6 cells	5-10 μ g
HEK293 Cells (human)	2×10^6 cells	10-20 μ g
HeLa Cells (human)	2×10^6 cells	15-25 μ g
Mouse Pancreas Tissue	20 mg	10-25 μ g
Mouse Spleen Tissue	10 mg	10-25 μ g
Mouse Thymus Tissue	16 mg	10-25 μ g
Mouse Lung Tissue	20 mg	5-15 μ g
Mouse Brain Tissue	16 mg	5-15 μ g
Mouse Kidney Tissue	20 mg	10-25 μ g
Mouse Liver Tissue	25 mg	10-30 μ g

Genomic DNA purified from cells using GenElute™ Mammalian Genomic DNA Purification Kit.



Figure 1. 各種細胞からのGenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep KitによるゲノムDNA精製
細胞数： 2×10^6 、200 ng / lane、0.8% アガロースゲル
分子量マーカー： λ DNA / Hind III

Genomic DNA purified from tissues using GenElute Mammalian Genomic DNA Purification Kit.



Figure 2. 各種組織からのGenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep KitによるゲノムDNA精製
200 ng/lane、0.8% アガロースゲル
分子量マーカー： λ DNA / Hind III

Genomic DNA purified with GenElute Mammalian Genomic DNA Purification Kit is suitable for restriction enzyme digestions.

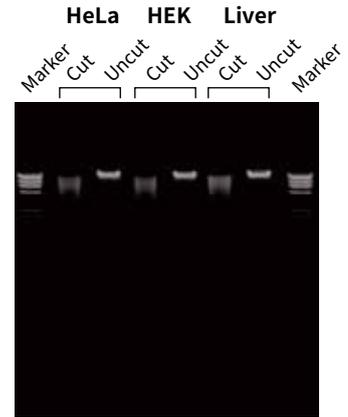


Figure 3. GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kitで精製したゲノムDNAの制限酵素処理
200 ngのDNAをEcoRI (10 units)で37°C、4時間消化。UncutはEcoRIを加えず同条件でインキュベーションした結果です。
150 ng/lane、0.8% アガロースゲル
分子量マーカー： λ DNA / Hind III

Consistently Higher Yield Than the Market Leader

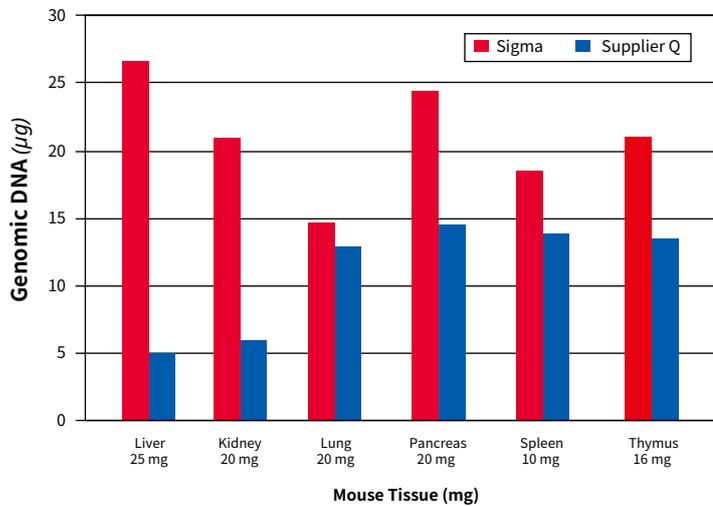


Figure 4. 他社製品との収量比較
溶出条件：200 μ L 2回

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kits	G1N10-1KT	10	¥5,000
	G1N70-1KT	70	¥22,900
	G1N350-1KT	350	¥98,400

関連製品： 96ウェルプレート用 哺乳類組織ゲノムDNA精製キット

20 mg以下の組織または10 μ L以下の培養細胞からプレート上で70分以内にゲノムDNAを精製することができます。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute™ 96 Well Tissue Genomic DNA Purification Kit	G1N9604-1KT	4 x 96 well plate	¥242,900

ゲノム DNA 精製

血液サンプル用

GenElute™ Blood Genomic DNA Miniprep Kits

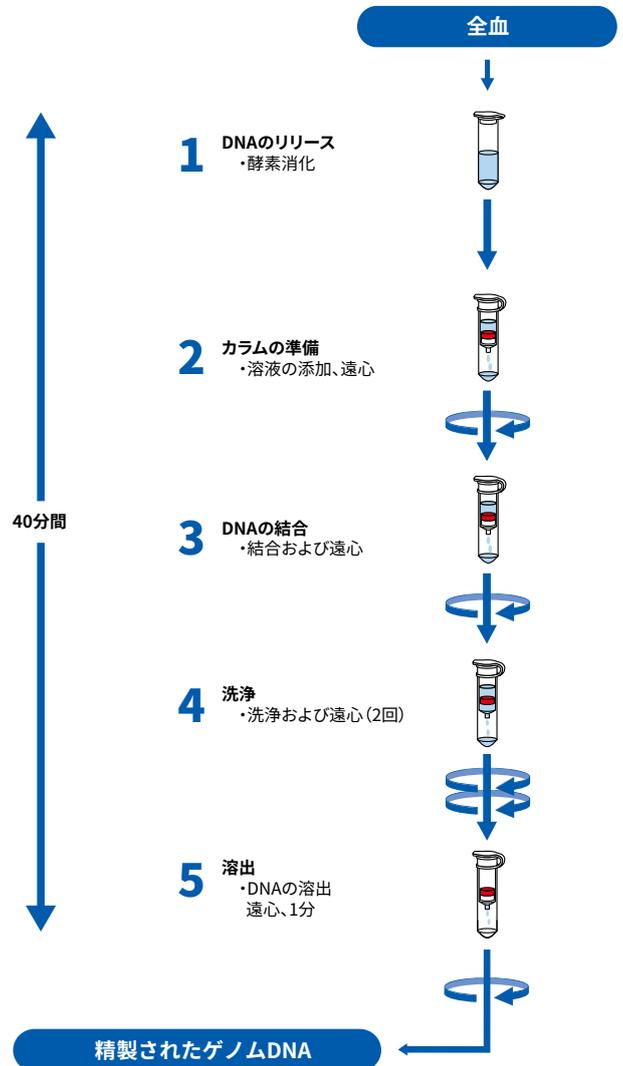
採取直後の血液および保存血液サンプルからのゲノムDNAの抽出に

GenElute Blood Genomic DNA Miniprep Kitはシリカメンブレンとスピンカラムを組み合わせ、採取直後の血液および24時間以上保存した血液サンプルから簡便に高純度の高分子量DNAを精製することができるキットです。高価な樹脂や有害な有機溶媒を使う必要はありません。全血をProteinase Kで消化し溶血後、カオトロピック塩を含む溶液を加えます。続いてDNAをメンブレンに結合させ、残りのライセートを遠心により除去します。

洗浄して夾雑物を除去した後、バッファーでDNAを溶出して回収チューブ中に回収します。得られた精製DNAは、シーケンシング、クローニング、プロットイング、制限酵素処理 (Fig.1)、ライゲーション、およびPCR (Fig.3) などの各種実験に用いることができます。

特長と利点

- 24時間以上保存した血液からも採取直後の血液と同様にゲノムDNAを精製可能
- EDTA、ヘパリン、クエン酸ナトリウムなどの抗凝固剤と共に使用可能 (Fig. 2A、2B)
- 高純度のDNAを40分以内にA₂₆₀/A₂₈₀が1.6 ~ 1.9の高純度ゲノムDNAを40分以内に精製
- RNase Aが付属



Genomic DNA purified by GenElute Blood Genomic DNA kits is suitable for restriction enzyme digestions.

EDTA		ヘパリン		クエン酸ナトリウム	
S	Q	S	Q	S	Q
M	U	E	H	E	H
U	E	H	E	H	M

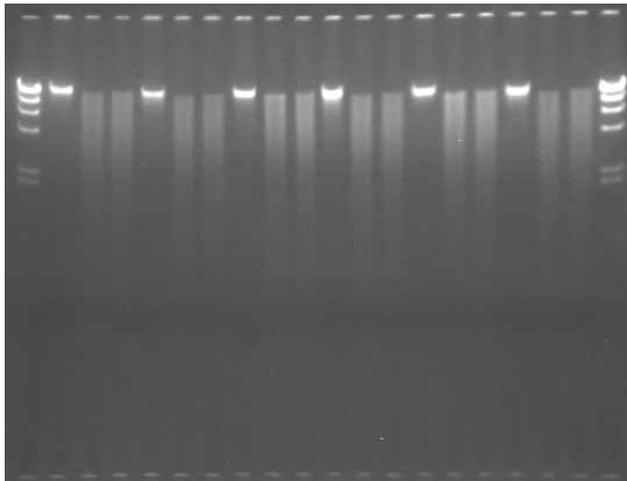


Figure 1. GenElute Blood Genomic DNA Kitで精製したDNAの制限酵素処理

3種の抗凝固剤を用いた血液サンプルより精製したゲノムDNAをEcoRI (5 units/ μ L)、Hind III (10 units/ μ L) で1.5時間消化しました。50 ng / lane、0.8% アガロースゲルで泳動
分子量マーカー： λ DNA / Hind III (製品番号 D9780)

U = Undigested
E = EcoRI
H = Hind III

Whole Blood collected in three different anticoagulants was isolated with the GenElute™ Blood Genomic DNA kit and Supplier Q to obtain genomic DNA.

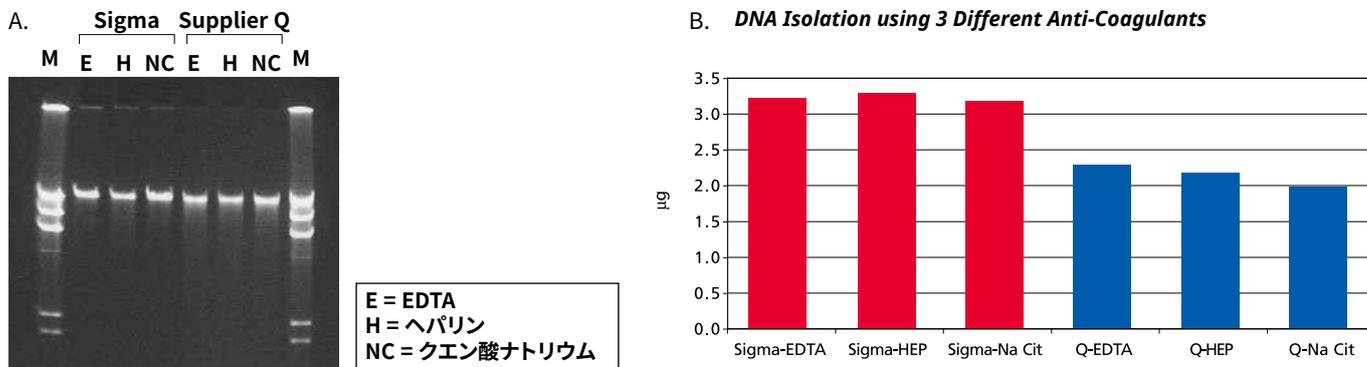


Figure 2. 他社キットとの比較

- A. 3種の抗凝固剤を用いた血液からのDNA精製結果
B. 3種の抗凝固剤を用いた血液からのDNA収量

PCR amplification of a 388 bp product isolated from Genomic DNA.

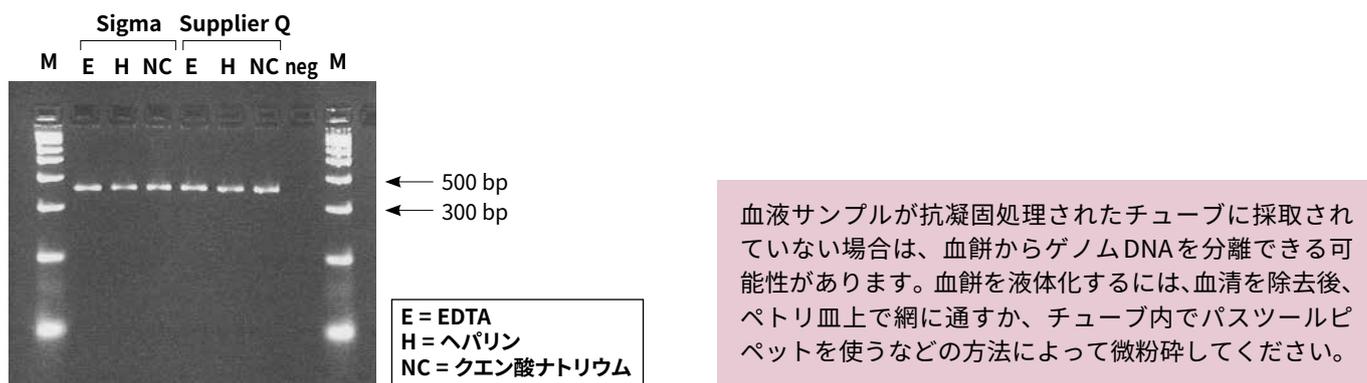


Figure 3. 精製したDNAを用いたPCRの結果

GenElute Blood Genomic DNA Kitで精製した溶出液5µLを鋳型として用いPCRで388 bpを増幅（35サイクル）
20µL中5µLを2%アガロースゲルで泳動しました。
分子量マーカー：PCR Marker 50 bp～2 kb（製品番号P9577）

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute™ Blood Genomic DNA Kit	NA2010-1KT	70	¥29,100
	NA2020-1KT	350	¥120,500

各種植物サンプルからのゲノムDNAの抽出に

GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kitは、種々の植物組織から簡便に高分子量DNAを高純度で分離することができるキットです (Table1、Fig. 1、2)。キットには採取直後の植物組織 (100 mg) あるいは凍結乾燥植物組織 (20 mg) からゲノムDNAを精製するのに必要な試薬、カラム、チューブが含まれています。

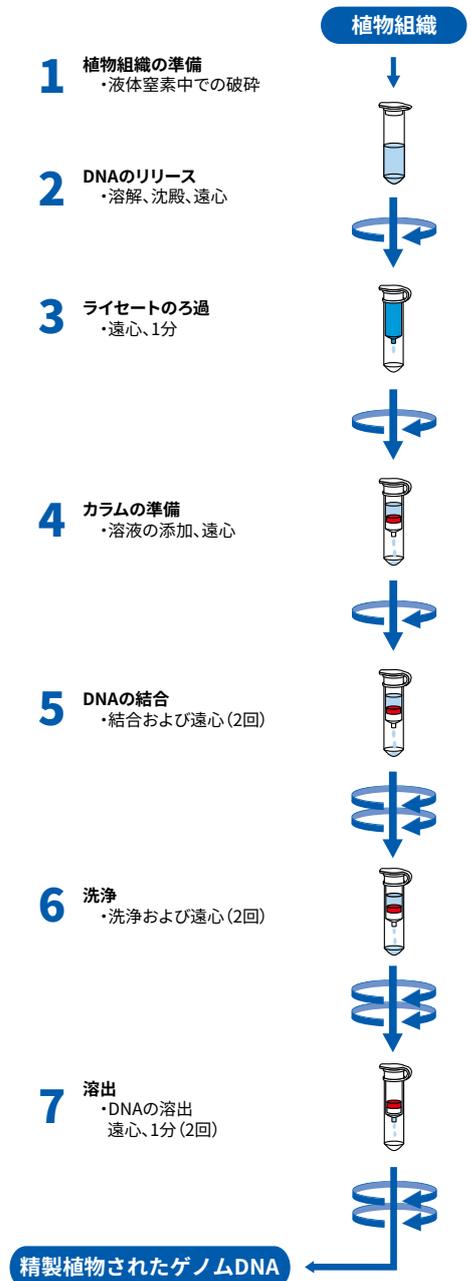
はじめのステップで植物組織を液体窒素下で破碎し界面活性剤とカオトロピック塩でDNAをリリースさせます。蛋白質、多糖類や細胞片は10分間の沈殿ステップとキットに含まれるフィルターカラムでの遠心で除去されます。スピナラム中のシリカメンブレンへの吸着、洗浄、溶出によりゲノムDNAを精製します。得られた精製DNAは、シークエンシング、クローニング、プロットイング、制限酵素処理、ライゲーションおよびPCR (Fig. 3) などの各種実験に用いることができます。

特長と利点

- 液体窒素での細胞破碎処理を含め40分以内でゲノムDNAが精製可能 (Fig. 4)
- 回収量は最高20 µg
- RNase 処理不要

Table 1. GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kitによる100 mgの葉サンプルからのDNA収量

サンプルの種類	収量
Corn	7.5 µg
Dianthus tissue culture	3.3 µg
Pepper	3.1 µg
Rice	5.9 µg
Soybean	5.7 µg
Tobacco	5.2 µg
Tomato	6.2 µg
Tomato (20 mg freeze dried leaf tissue)	5.7 µg
Wheat	11.5 µg



Genomic DNA from various plant species isolated with GenElute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit.

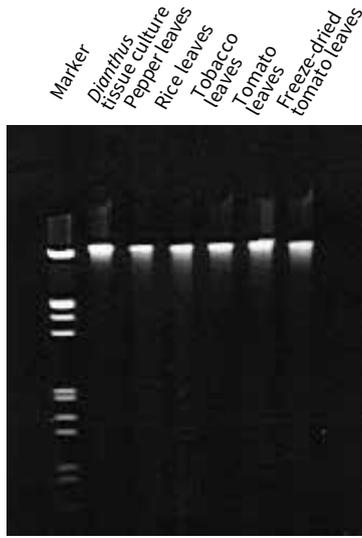


Figure 1. GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kitによる各種植物組織からのゲノムDNA精製
 0.4µg/lane、0.8% アガロースゲル
 分子量マーカー：λ DNA / Hind III (製品番号 D9780)

Genomic DNA isolated from 100 mg fresh tomato leaves using various kits.

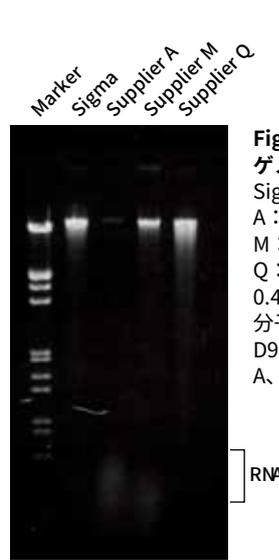


Figure 2. 各種キットによる植物組織からのゲノムDNA精製
 Sigma：メンブレン法
 A：レジン法
 M：溶液法
 Q：メンブレン法
 0.4µg/lane、0.8% アガロースゲル
 分子量マーカー：λ DNA / Hind III (製品番号 D9780)
 A、MにはRNAの混入が見られました。

PCR amplification of a 500 bp product isolated from genomic DNA.

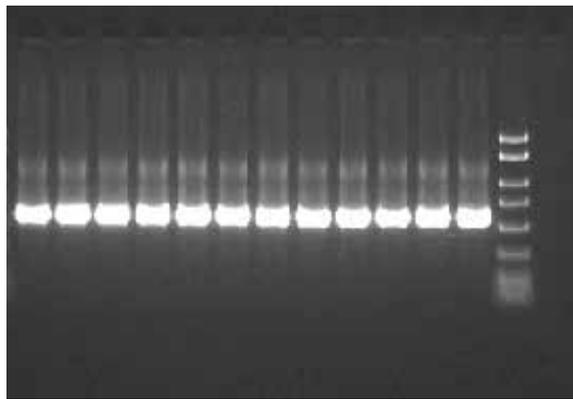


Figure 3. 精製したDNAを用いたPCRの結果
 GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kitで精製した溶出液5µLを鋳型として用いPCRで500 bpの断片を増幅(30サイクル)後、20µL中5µLを2%アガロースゲルで泳動しました。
 分子量マーカー：PCR Marker 50 bp～2 kb (製品番号 P9577)

Supplier Comparison of Preparation Time

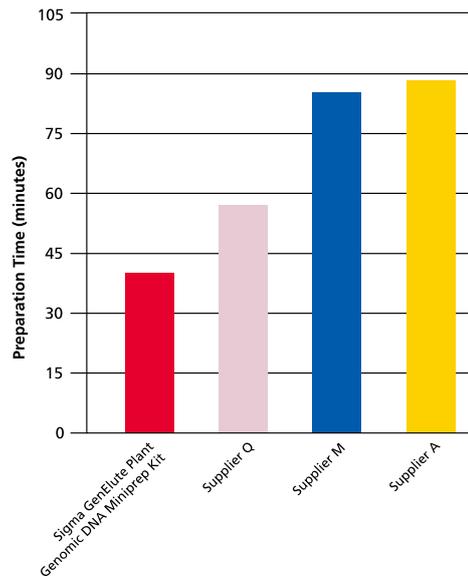


Figure 4. 各社キットの所要時間

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kit	G2N10-1KT	10	¥10,400
	G2N70-1KT	70	¥32,800
	G2N350-1KT	350	¥141,400

関連製品： 植物および菌類のゲノムDNA精製キット

迅速に高品質のゲノムDNAを抽出することができます。
 得られたDNAはqPCR、サザンブロット、SNP解析、シーケンスに利用可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
Plant/Fungi DNA Isolation Kit	E5038-1KT	50	¥36,700

各種微生物からのゲノムDNAの抽出に

グラム陰性菌 (Fig. 1) とグラム陽性菌 (Fig. 2) の両方から簡便に高分子量DNAを高純度で分離することができるキットです。シリカメンブレンとスピнкаラムを組み合わせた方法で、高価な樹脂や有害な有機溶媒を使う必要はありません。バクテリアは最初に適当な酵素で処理し、カオトロピック塩を含む溶液中で溶菌します。続いてDNAをメンブレンに結合させ、残りのライセートを遠心により除去します。洗浄して夾雑物を除去した後、バッファーでDNAを溶出して回収チューブ中に回収します。得られた精製DNAは最大50 kb (Fig. 3) で、シークエンシング、クローニング、プロットイング、制限酵素処理、ライゲーションおよびPCRなどの各種実験に用いることができます。

特長と利点

- グラム陽性菌とグラム陰性菌の両方に使用可能
- A_{260}/A_{280} が 1.6 ~ 1.9 の高純度ゲノムDNAを2時間以内に精製可能
- 収量は 15 ~ 20 μg
- 溶解用リゾチームバッファーと RNaseA が付属

Comparison of Gram - bacteria genomic DNA isolation kits.

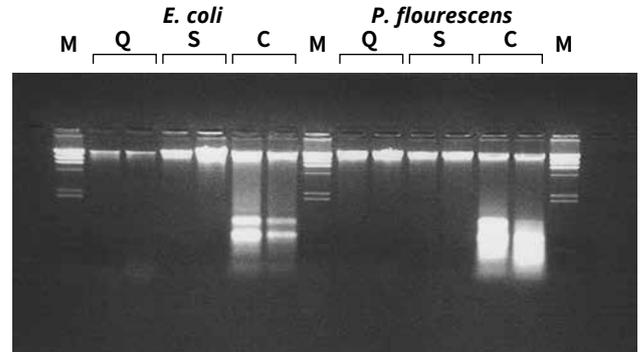


Figure 1. 各種キットを用いたグラム陰性菌ゲノムDNAの精製

1% アガロースゲルで泳動
分子量マーカー： λ DNA /Hind III (製品番号 D9780)

Q = Supplier Q
S = Sigma
C = Supplier C

Table 1: GenElute Bacterial Genomic DNA Kit を用いた各種バクテリアからのゲノムDNAの収量の例

微生物	培地	培地液量 (オーバーナイト培養)	オーバーナイト培養液の OD ₆₀₀ /mL*	DNA収量 (RNase処理済)**
<i>Escherichia coli</i> , ATCC# 11775	Terrific broth (Product Code T9179)	0.8 ml	12.5	20 μg
<i>Escherichia coli</i> , ATCC# 11775	LB broth (Product Code L7658)	1.5 ml	5	20 μg
<i>Escherichia coli</i> DH10B	LB broth (Product Code L7658)	1.0 ml	5	15 μg
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , ATCC# 13525	Terrific broth (Product Code T9179)	0.8 ml	16	25 μg
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , ATCC# 13525	Nutrient broth (Product Code N7519)	1.5 ml	2	20 μg
<i>Bacillus subtilis</i> , ATCC# 6051	Todd Hewitt broth (Product Code T1438)	1.5 ml	6	25 μg
<i>Streptococcus mutans</i> , ATCC# 35668	Todd Hewitt broth (Product Code T1438)	1.5 ml	1.3	15 μg ***
<i>Staphylococcus epidermidis</i> , ATCC# 14990	Nutrient broth (Product Code N7519)	1.5 ml	2	8 μg ****

* Varian Cary 100 Spectrophotometer を用い適当に希釈して測定

** 200 μL で2回溶出

*** Lysozyme Solution に 250 units/mL の Mutanolysin (製品番号 M9901) を加えて使用

**** Lysozyme Solution に 200 units/mL の Lysostaphin (製品番号 L7386) を加えて使用

Comparison of Gram + bacteria genomic DNA isolation kits.

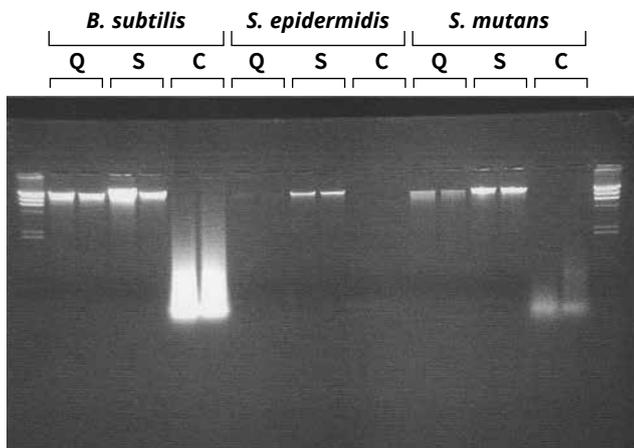


Figure 2. 各種キットを用いたグラム陽性菌からのゲノムDNA精製
1% アガロースゲルで泳動
分子量マーカー：λ DNA /Hind III (製品番号 D9780)

Q = Supplier Q
S = Sigma
C = Supplier C

PFGE of Bacterial gDNA isolated with GenElute™ Bacterial gDNA Kit

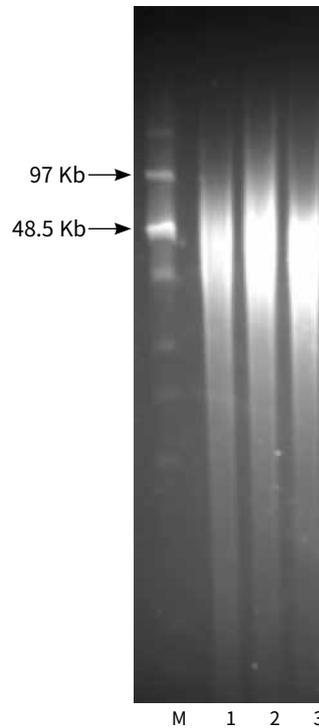


Figure 3. 各種バクテリアからのゲノムDNA精製
パルスフィールド電気泳動の結果
1% アガロースゲル、0.5 × TBE、150 V、4°C
BioRad CHEF DRII system
Initial pulse time 2 sec.
Final pulse time 13 sec.
Start ratio 1.0
Pump speed 70
分子量マーカー：0.1 ~ 200 kb pulse maker (製品番号 D2291)
Lane1: E.coli.
Lane2: P.fluorescens
Lane3: B.subtilis

リゾチームは、ボルテックスよりもピペット操作で混和して下さい。泡の発生も抑えられ、溶解も容易です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute Bacterial Genomic DNA Kits	NA2100-1KT	10	¥5,300
	NA2110-1KT	70	¥29,100
	NA2120-1KT	350	¥123,800

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織からの DNA 抽出キット GenElute™ FFPE DNA Purification Kit

特長

- FFPE 組織サンプルから高収量の DNA を精製
- フェノールクロロホルム抽出不要
- スピнкаラム方式で 1 時間以内に抽出

抽出した DNA は PCR、qPCR、変異スクリーニング、シーケンス、サザンブロットティング、マイクロアレイ、SNP 解析に利用可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute FFPE DNA Purification Kit	DNB400-50RXN	50	¥41,000

土壌サンプルからの DNA 抽出キット GenElute Soil DNA Isolation Kit

特長

- 粘土、壤土、砂質土など一般的な土壌サンプル、および、高含量のフミン酸を有する堆肥や肥料などの土壌サンプルから 30 分以内にサンプル中の微生物由来 DNA を抽出可能
- PCR 反応を阻害するフミン酸を精製過程で DNA サンプルから除去

抽出した DNA は PCR、qPCR、サザンブロットティングに利用可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute Soil DNA Isolation Kit	DNB100-50RXN	50	¥47,000

凍結便サンプルからのDNA抽出キット GenElute™ Stool DNA Isolation Kit

特長

- 宿主DNAと微生物DNAの両方を同時に抽出
- PCRを阻害するフミン酸をDNAサンプルから除去
- スピнкаラム方式で30分以内に抽出

抽出したDNAはPCR、シーケンス、サザンブロットィング、マイクロアレイに利用可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute Stool DNA Isolation Kit	DNB200-50RXN	50	¥47,000

尿サンプルからのDNA抽出キット GenElute Urine Cell-Free DNA Purification Mini Kit

特長

- 250 µL～2 mLの尿サンプルから細胞外遊離DNA (cfDNA) を抽出

抽出したDNAはPCR、qPCR、変異スクリーニング、シーケンス、サザンブロットィング、マイクロアレイ、SNP解析に利用可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
GenElute Urine Cell-Free DNA Purification Mini Kit	DNB300-50RXN	50	¥41,000

ダイレクト PCR

哺乳類サンプル用 Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kit (エクストラクト・エヌ・アンプ 組織PCRキット)

組織・細胞の採取からPCRまでわずか15分

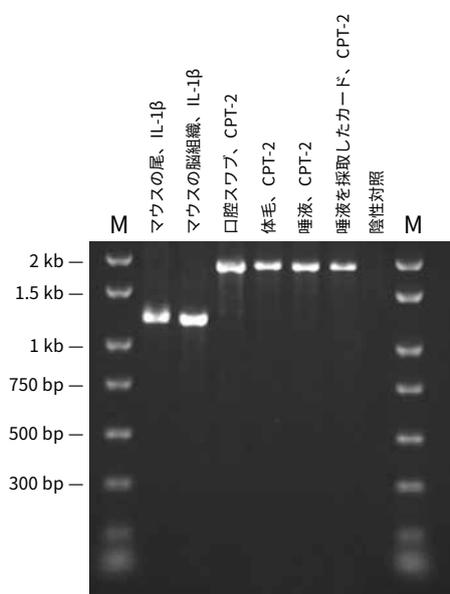
Extract-N-Amp Tissue PCR Kitには、さまざまな細胞および組織からDNAを速やかに抽出し、目的とするDNA部分をPCR (Fig. 1) で増幅させるために必要な試薬がすべて揃っています。

斬新な抽出法が採用されており、時間のかかる酵素処理またはホモジネーションを行なう必要がありません。このキットには、抽出物を直接増幅させるために特別に調製したホットスタート用のPCR ReadyMix™も付属しています。PCR ReadyMixには、Extract-N-Amp PCR ReadyMixとREExtract N-Amp™ PCR ReadyMixの2種類のキットがあります。REExtract N-Amp PCR ReadyMixはアガロース電気泳動トラッキング用の赤色の色素が含まれ、ローディングバッファーや色素を添加することなく、PCR反応後にアガロースゲルにそのままローディングして電気泳動することができます。

キットには、マウスの尾、体毛、動物細胞、唾液および口腔粘膜組織からゲノムDNAを抽出し、増幅させるための有効なプロトコルが付属しています。一般的には、Tissue Preparation SolutionおよびExtraction Solutionの混合液を用い、室温で10分間インキュベートした組織サンプルからゲノムDNAを抽出します。サンプルを3分間95°Cに加熱し、Neutralization Solutionを混合してPCRの前に阻害物質の作用を中和します。中和したサンプルの一部とキットに付属するREExtract-N-Amp™またはExtract-N-Amp™ PCR ReadyMix™、さらに目的のプライマーを混合し、PCRを行います。

特長と利点

- PCRに適したゲノムDNAを15分で速やかに抽出
- マウスの尾、体毛、動物細胞、唾液および口腔粘膜組織由来DNAによるジェノタイピングに最適
- ホットスタートPCR法で、特異的にDNA増幅が可能
- REExtractはPCR後にそのままアガロースゲルにローディングして電気泳動可能



Extract-N-Amp Tissue PCR Kitの 操作の概要

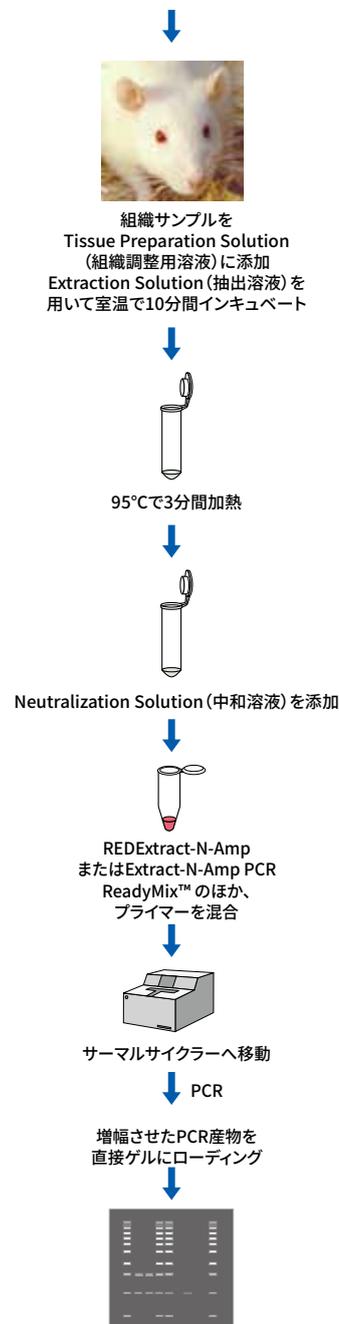


Figure 1. Extract-N-Amp Tissue PCR KitによるさまざまなサンプルからのゲノムDNA抽出と増幅結果

ゲノムDNAは、Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kitの使用説明書に記載されている各サンプルに適したプロトコルを用いてサンプルから抽出。いずれのサンプルも抽出操作は15分未満で終了しました。続いて、特別に調製したホットスタート用のPCR ReadyMix™を用いて、抽出したDNAを増幅させました。得られた生成物は、マウスのインターロイキン1β遺伝子に由来する1,181 bp断片、ヒトのカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII遺伝子に由来する1,820 bp断片です。マーカーはPCR Marker (製品番号P9577) です。

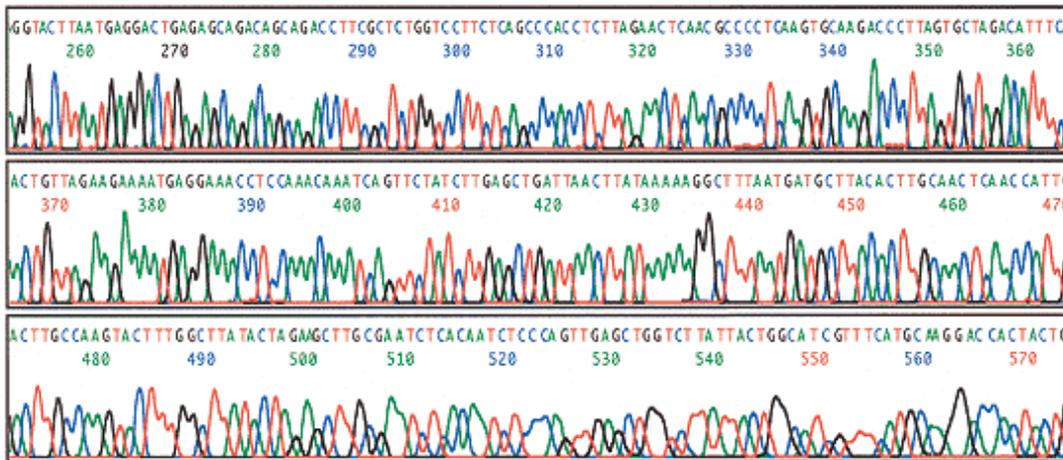


Figure 2. マウスの尾のインターロイキン1β遺伝子に由来する1181 bpのPCR産物のシーケンシング結果
 GenElute™ PCR Clean-Up Kit (製品番号 NA1020) でPCR産物を精製しました。シグマアルドリッチのExtract-N-Amp™ Tissue PCR Kit を用いてDNAを抽出し、PCRを行いました。ABI BigDye® Terminatorと最初のPCRと同じプライマーを用いて塩基配列を得ました。ABI PRISM® 310 Genetic Analyzerで反応産物を解析。

37°Cにおけるマウスの尾の抽出物の安定性

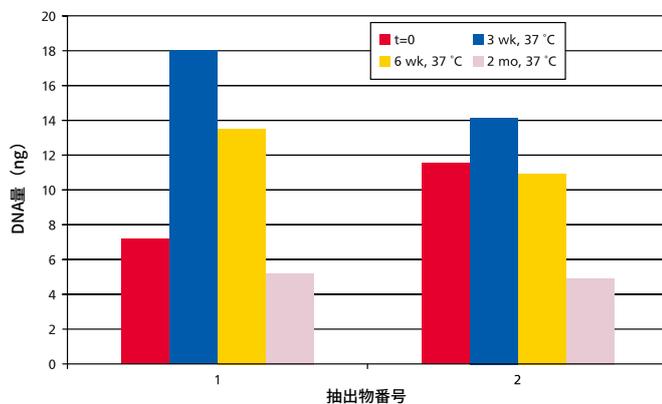


Figure 3. Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kitの使用説明書に記載されている手順に従って、マウスの尾のサンプルを抽出
 サンプルを保存するため、サンプルに残るマウスの尾の組織を除去しました。ABI Prism® 7700でSYBR® Greenを検出する定量PCRでサンプル4μLを直ちに分析。GenElute Mammalian Genomic DNA Kit (製品番号 G1N70) を用いてマウスの尾から調製した精製DNAを定量PCRのDNA標準とし、1回分に分けて-20°Cで保存しました。マウスの尾の抽出物は37°Cで保管(加速試験)。37°Cの抽出物の定量PCRを3週間後、5週間後および2ヵ月後に繰り返しました。この結果は、推奨温度4°Cで抽出物を保管すると少なくとも6ヵ月間は安定していることを示唆しています。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
REExtract-N-Amp Tissue PCR Kit	XNAT-10RXN	抽出 10 回、PCR10 回	¥5,400
	XNAT-100RXN	抽出 100 回、PCR100 回	¥39,600
	XNAT-1000RXN	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥363,200
Extract-N-Amp Tissue PCR Kit	XNAT2-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥40,900
	XNAT2R-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥351,800

ダイレクト PCR

哺乳類サンプル リアルタイムPCR用 SYBR® Green Extract-N-Amp™ Tissue PCR Kit (サイバークリーンエクストラクト・エヌ・アンプ組織PCRキット)

ゲノムDNA抽出から定量PCRまでをダイレクトに

SYBR Green Extract-N-Amp Tissue PCR Kitには、マウスの尾などの動物細胞、口腔粘膜組織、毛幹および唾液からゲノムDNAを速やかに抽出、増幅および検出するのに必要な試薬がすべて揃っています。

SYBR Green Extract-N-Amp Tissue PCR Kitは、時間のかかる酵素処理またはホモジネーションを行なう必要がない革新的な抽出システムをもつキットです。この製品には、抽出後に直接増幅および定量を行なうために特別に調製したホットスタート用のSYBR Green PCR ReadyMixが付属しています。

手順：Extraction SolutionとTissue Preparation Solutionの混合液を使ってサンプルを室温で10分間インキュベートすることによって、組織から速やかにDNAを抽出します。3分間加熱して変性させたのちに、等量のNeutralization Solution Bを抽出液に添加して、阻害物質を中和させます。どのプレートタイプのリアルタイム・サーマルサイクリングシステムによるリアルタイムPCRを行なう場合も、15分以内に抽出物を調製することができます。

用途：ジェノタイプング、遺伝子コピー数の測定、多様な組織サンプルのDNAの増幅および定量に最適です。

特長と利点

- 定量PCR (qPCR) に適したゲノムDNAを1段階の液体抽出操作だけで調製
- 組織の採取からqPCRまでわずか15分
- 特別に調製したホットスタート用SYBR Green PCR ReadyMixにより、ゲノムDNAの高特異的なPCR増幅および定量が可能



Distinguish Differences in Gene Copy Number

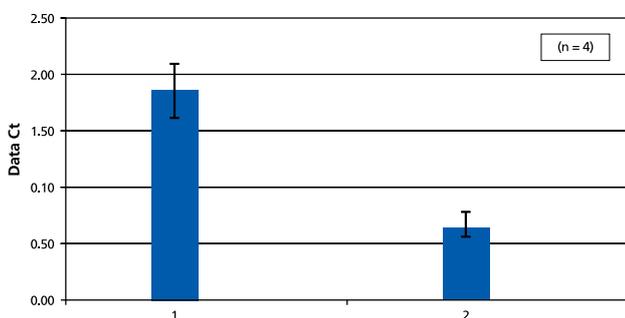


Figure 1. 遺伝子の1コピーと2コピーとを識別するSYBR Green Extract-N-Amp

SYBR Green Extract-N-Amp Tissue PCR Kitの標準プロトコルに従って、*Diap2* 遺伝子の1コピーまたは2コピーが含まれる8本のマウスの尾から抽出液を調製しました。2個のExtract-N-Amp™ SYBR® Green PCR ReadyMix™を用いて各抽出物の1コピー遺伝子のPCR反応を2回行ないました。

High Sensitive SYBR Green PCR ReadyMix

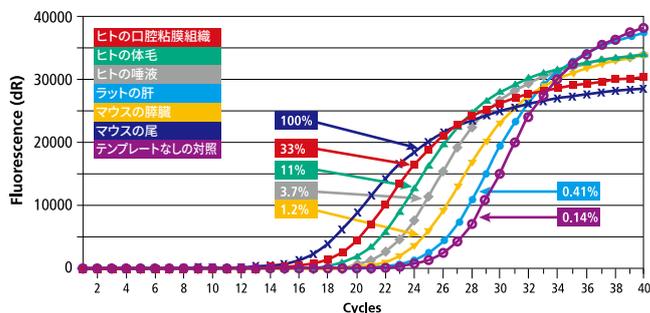


Figure 2. 抽出液の段階希釈液から単離したDNAの定量PCR
SYBR Green Extract-N-Amp Tissue PCR Kitの標準プロトコルに従ってマウスの尾の断片からDNAを抽出。抽出液を3倍に希釈する操作を繰り返して100～0.14%の抽出液を得ました。上に示すように、最も希薄な抽出液のシグナルもしっかりと検出することができました。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
SYBR Green Extract-N-Amp Tissue PCR Kit	XNATG-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥41,600
	XNATRG-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥417,800

ダイレクト PCR

血液サンプル用 Extract-N-Amp™ Blood PCR Kit (エクストラクト・エヌ・アンプ 血液PCRキット)

8分以下で血液からPCR用のゲノムDNAを抽出

Extract-N-Amp Blood PCR Kitには、全血からの迅速なゲノムDNA抽出と目的遺伝子のPCRを行うための試薬が含まれています (Fig. 1)。この抽出システムを用いれば有機溶媒抽出、遠心、加熱、ろ過、アルコール沈殿等のDNA精製手法は一切不要です。また本キットには特別に処方したPCR Ready Mixが含まれており、抽出後直ちに特異性の高いホットスタートPCRを行うことができます。この反応液にはExtract-N-Amp Blood PCR Mix とREExtract-N-Amp™ Blood PCR Mixの2種類があります。REExtract-N-Amp Blood PCR Mixに含まれている不活性赤色色素は、REDTaqで使用されている色素と同一のもので、アガロースゲル電気泳動の際トラッキング色素として働き、PCR後の反応液をアガロースゲルにそのまま添加して分析することができます。10 µgの全血をLysis Solutionに加え室温で5分間インキュベーションするだけでゲノムDNAを抽出できます。PCRを阻害する物質を抑えるためにNeutralization Solutionを加えます。一部をPCR Ready Mixに加えPCRを行います。

特長と利点

- PCR用のゲノムDNAをワンステップで8分以内に抽出可能
- 有機溶媒抽出や遠心、アルコール沈殿等の精製操作は不要
- 全血サンプルでも Blood Card サンプルでも使用可能
- 抽出したDNAは4°Cで6ヶ月以上安定 (Fig. 2)

Extract-N-Amp Blood PCR Kitの 操作手順



PCR analysis of genomic DNA isolated from blood using Sigma's Extract-N-Amp Blood PCR Kit.

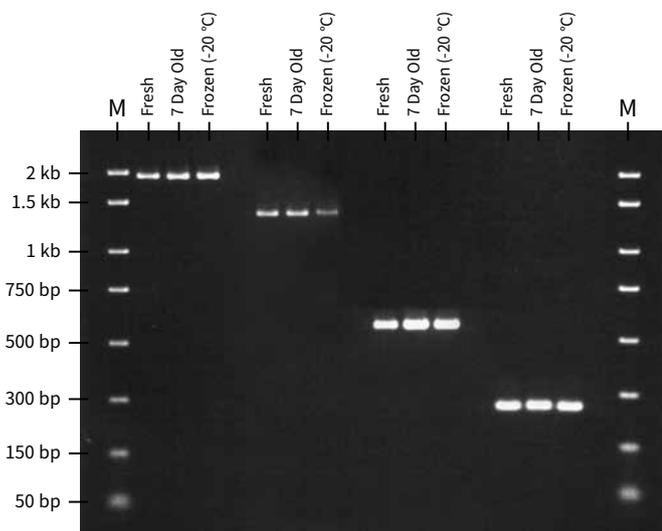


Figure 1. Extract-N-Amp Blood PCR Kitを用いて3種類の血液サンプルのPCRを行った結果

サンプル：Fresh: 採取直後の血液

7 Day Old: 4°Cで7日保存した血液

Frozen (-20°C) : -20°Cで7日保存した血液

プライマー：1. carnitine palmitoyltransferase II (1.8 kb)

2. mitochondrial DNA control region (1.3 kb)

3. human surfactant protein B (547 bp)

4. 5' untranslated region of human major histocompatibility complex class II (約300 bp)

Stability of Blood Extracts at 37 °C

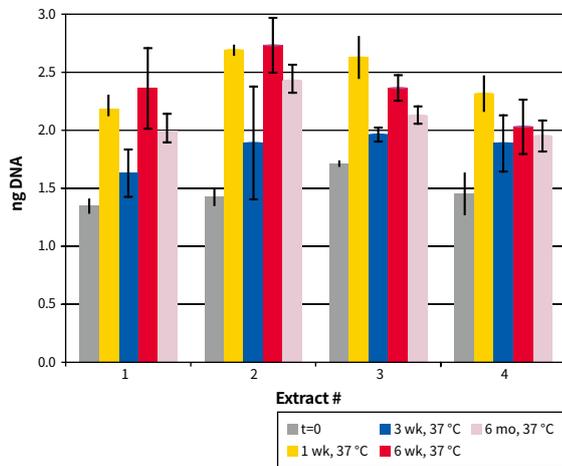


Figure 2. 血液抽出液中のDNAの保存安定性

EDTA入り採血管に採取したヒト血液サンプル2点から各2回抽出。各サンプルの半分は4°C(推奨保存温度)で、もう半分は37°C(加速試験)で保存。1、3、6週間および6ヵ月後に分取し、SYBR® Greenを用いた定量PCR (ABI Prism® 7700使用) によりDNA量を測定。同じ血液サンプルからGenElute™ Blood Genomic DNA Kit (製品番号G1N70) により精製したDNAをコントロールとして使用。プライマー：human surfactant protein B (547 bp) (SPB; Lin & Floros, 2000, *BioTechniques*, 29: 460-466) 37°Cで6ヶ月保存してもDNAの減少が見られません。4°Cで保存したサンプルでも同様の結果が得られています。

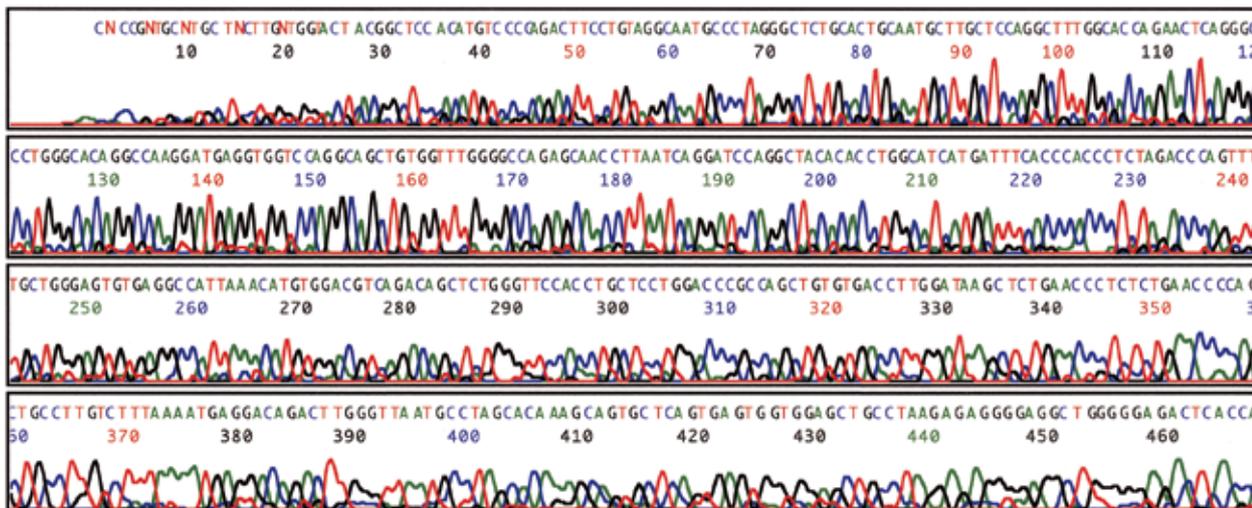


Figure 3. Extract-N-Amp™ Blood PCR Kitにより増幅したDNAのシーケンスの結果

サンプル：Human surfactant protein B (547 bp) プライマーを用いて増幅したDNA

ABI Prism3100とABI BigDye® Terminatorを用いてシーケンス解析を行いました。

Note：サンプルによってはPCR産物をシーケンス前に精製したほうが良い場合があります。その場合はGenElute PCR Clean-up Kit (製品番号NA1020) をお使いください。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
REExtract-N-Amp Blood PCR Kit	XNABS-1KT	抽出 10 回、PCR10 回	¥5,700
	XNAB-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥41,400
	XNABE-1KT	抽出 100 回、PCR500 回	¥183,000
	XNABR-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥411,500
Extract-N-Amp Blood PCR Kit	XNAB2-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥40,100
	XNAB2R-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥238,000

ダイレクト PCR

植物サンプル用 Extract-N-Amp™ Plant PCR Kit (エクストラクト・エヌ・アンプ 植物PCRキット)

15分で植物の葉からPCR用のゲノムDNAを抽出

Extract-N-Amp Plant PCR Kitには、植物の葉からの迅速なゲノムDNA抽出と目的遺伝子のPCRを行うための試薬が含まれています (Fig.1)。この抽出システムを用いれば、液体窒素による植物組織の凍結、機械的破碎、有機溶媒抽出、カラム処理や沈殿などの精製操作は不要です。また本キットには特別に調製したPCR ReadyMix™が含まれており、抽出後直ちに特異性の高いホットスタートPCRを行うことができます。この反応液にはExtract-N-Amp PCR ReadyMixとREExtract-N-Amp™ PCR ReadyMixの2種類があります。REExtract-N-Amp PCR ReadyMixに含まれている不活性赤色色素は、REDTaqで使用されている色素と同一のもので、アガロースゲル電気泳動の際トラッキング色素として働き、PCR後の反応液をアガロースゲルにそのまま添加して分析することができます。

このキットでは、普通の紙用パンチャーで切り出した直径0.5～0.7 cmの葉の組織片をそのまま抽出液に入れ、95℃で10分間加熱してゲノムDNAを抽出します。得られたゲノムDNAはPCRを行なう前に等量の希釈液で希釈して、阻害物質を中和します。プライマーとREExtract-N-Amp PCR Reaction Mixを含むPCR反応液に、抽出したDNAの一部を添加してPCRを行ないます。

特長と利点

- ワンステップでPCR用のゲノムDNAを15分以内に抽出可能
- 凍結、機械的破碎、有機溶媒抽出、カラム精製、沈殿等は不要
- 植物の遺伝子解析用に多数のサンプル処理が必要な場合に最適
- 抽出したDNAは4℃で6ヶ月以上安定 (Fig. 3)
- REExtract-N-Amp™ PCR ReadyMix™を使えば
ローディングバッファーやトラッキング色素の添加は不要

PCR analyses of genomic DNA extracted from 5 different plant species using Sigma's Extract-N-Amp Plant Kit.

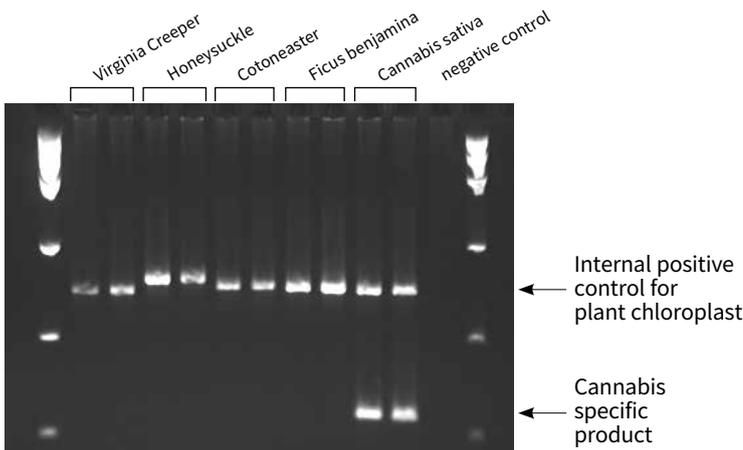


Figure 1. Extract-N-Amp Plant PCR Kitを用いて5種類の葉組織サンプルのPCRを行った結果
サンプル：Virginia Creeper, Honeysuckle, Cotoneaster, Ficus benjamina, Cannabis sativa
プライマー：1. plant chloroplast specific primer
2. Cannabis specific primer

Extract-N-Amp Plant PCR Kitの 操作手順



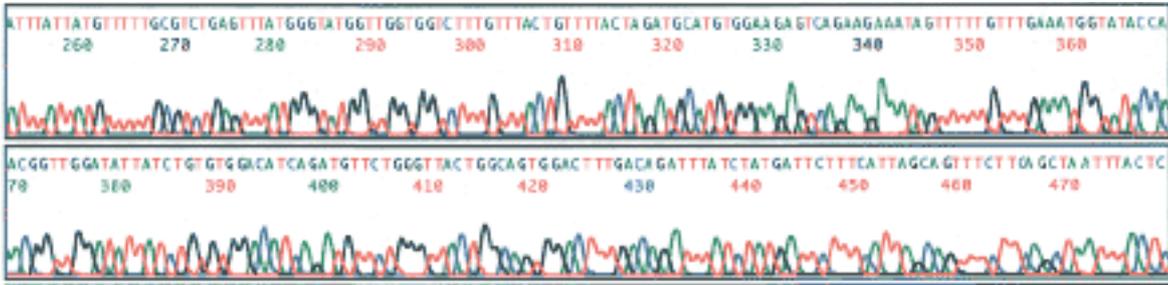


Figure 2. Extract-N-Amp™ Plant PCR Kitにより増幅したDNAのシークエンスの結果

サンプル：Corn leafより645 bpのプライマーを用いて増幅したDNAをGenElute™ PCR Clean-up Kit（製品番号NA1020）で精製ABI Prism® 310とABI BigDye® Terminatorを用いてシークエンス解析を行いました。

Stability of Plant Extracts at 37 °C

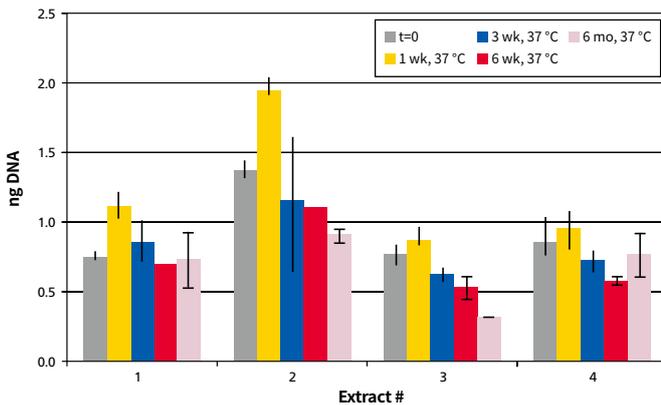


Figure 3. Corn leafから抽出したDNAの保存安定性

Corn leafから8サンプルを打ち抜きExtract-N-Amp™ Plant PCR KitのプロトコールにしたがってDNAを抽出。

半分は4°C（推奨保存温度）で、半分は37°C（加速試験）で保存。1、3、6週間および6ヶ月後に分取し、SYBR® Greenを用いた定量PCR（ABI Prism 7700使用）によりDNA量を測定。同じサンプルからGenElute Plant Genomic DNA Kit（製品番号G2N70）により精製したDNAをコントロールとして使用。2サンプルの平均値を表示。37°Cで6ヶ月保存してもDNAの減少は見られません。4°Cで保存したサンプルでも同様の結果が得られています。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
REExtract-N-Amp™ Plant PCR Kit	XNAPS-1KT	抽出 10 回、PCR10 回	¥5,700
	XNAP-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥37,800
	XNAPE-1KT	抽出 100 回、PCR500 回	¥186,300
	XNAPR-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥358,900
Extract-N-Amp Plant PCR Kit	XNAP2-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥37,400
	XNAP2E-1KT	抽出 100 回、PCR500 回	¥197,800
	XNAR-1KT	抽出 1000 回、PCR1000 回	¥377,500

関連製品： 植物サンプルのリアルタイムPCR用キット

リアルタイムPCR用にPCR反応ミックスにSYBR Greenが含まれています。

製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
SYBR Green Extract-N-Amp Plant PCR Kit	XNAPG-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥49,900

ダイレクト PCR

種子サンプル用 Extract-N-Amp™ Seed PCR Kit (エクストラクト・エヌ・アンプ 種子 PCR キット)

種子からゲノム DNA を速やかに抽出

Extract-N-Amp Seed PCR Kit を用いると、簡単な抽出プロトコルを用いて、PCR に適した種子のゲノム DNA をわずか 15 分で抽出することができます。Extract-N-Amp Seed PCR Kit で増幅させた PCR 産物はダイレクトシーケンシングに適しています。フェノール/クロロホルム抽出またはアルコール沈殿を行なう必要はありません。Extract-N-Amp Seed PCR Kit で抽出した DNA は 4°C で保存すると少なくとも 6 カ月間は安定しているため、試験を何度も繰り返すことができます。

特長と利点

- PCR に適したゲノム DNA を 15 分で抽出
- さまざまな種類の種子に適合
- ホットスタート PCR 法で特異的にゲノム DNA 増幅が可能
- カラム精製または遠心分離が不要

保存温度：-20 ~ 0°C

Identify Specific Genes Before Planting Seeds

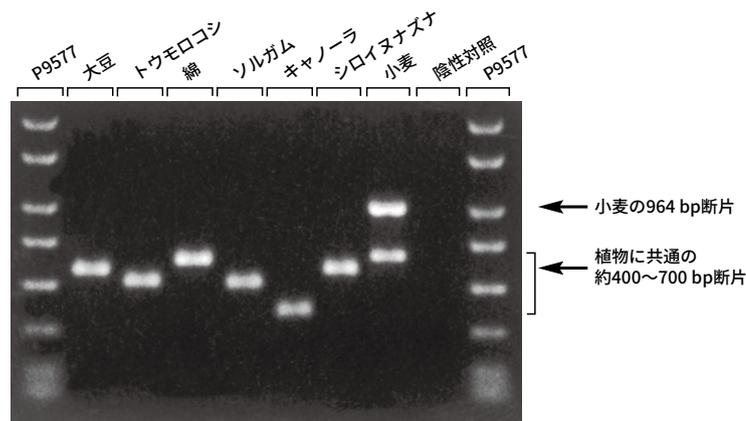


Figure 1. Extract-N-Amp Seed の使用説明書に記載されているプロトコルを用いて種子からゲノム DNA を抽出

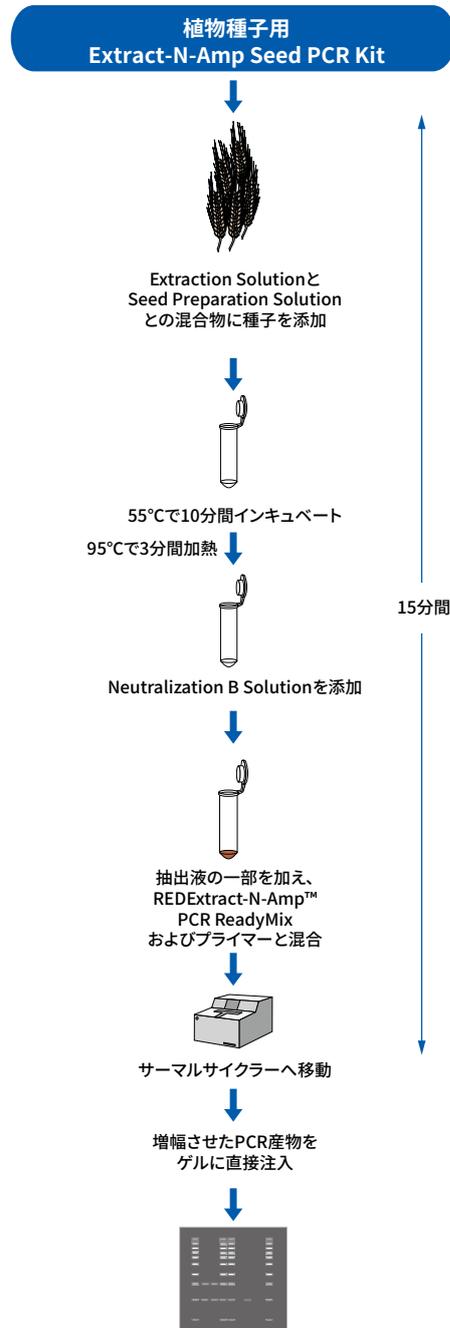
JumpStart™ PCR ReadyMix™、共通の葉緑体遺伝子（約 400 ~ 700 bp）および小麦に特異的なアセチル補酵素 A カルボキシラーゼ遺伝子（964 bp）の両方に対応する PCR プライマーを用いて、抽出液をすべて増幅させました。

Sequence PCR Products for Further Characterization of Genes



Figure 2. シグマアルドリッチの Extract-N-Amp Seed PCR Kit を用いて小麦から DNA を抽出し、PCR (Fig.1 の解説参照)

GenElute PCR Clean-Up Kit（製品番号 NA1020）で目的とする PCR 産物を精製しました。クロマトグラムは、小麦のアセチル補酵素 A カルボキシラーゼ遺伝子に由来する 964 bp の PCR 産物の塩基配列を決定した結果の一部を示しています。塩基配列は、ABI BigDye® Terminator のほか、最初の PCR と同じプライマーを用いて得ました。反応産物は ABI Prism® 377 DNA Sequencer で解析。



製品名	カタログ番号	使用回数	希望販売価格
REExtract-N-Amp™ Seed PCR Kit	XNASS-1KT	抽出 10 回、PCR10 回	¥6,000
	XNAS-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥47,400
Extract-N-Amp Seed PCR Kit	XNAS2-1KT	抽出 100 回、PCR100 回	¥44,100

ダイレクト PCR

ダイレクト PCR キット 補充用試薬 (Extract-N-Amp エクストラクト・エヌ・アンプ シリーズ 補充用試薬)

PCR 反応液 ミックス

哺乳類、植物、種子用 (赤色)	カタログ番号	容量	希望販売価格
	R4775-1.2ML	1.2 mL	¥38,000
REExtract-N-Amp™ PCR ReadyMix™	R4775-12ML	12 mL	¥251,000
	R4775-125ML	125 mL	¥1,526,600
哺乳類、植物、種子用	カタログ番号	容量	希望販売価格
	E3004-1.2ML	1.2 mL	¥31,400
Extract-N-Amp™ PCR ReadyMix	E3004-12ML	12 mL	¥244,200
	E3004-125ML	125 mL	¥1,721,100
哺乳類、植物、種子用 (qPCR 用)	カタログ番号	容量	希望販売価格
	S4320-1.2ML	1.2 mL	¥28,800
SYBR® Green Extract-N-Amp PCR ReadyMix	S4320-12ML	12 mL	¥263,800
血液用 (赤色)	カタログ番号	容量	希望販売価格
REExtract-N-Amp PCR ReadyMix for Blood	P8240-12ML	12 mL	¥278,000
血液用	カタログ番号	容量	希望販売価格
Extract-N-Amp PCR ReadyMix for Blood	P8115-12ML	12 mL	¥269,700

抽出液・溶解液

哺乳類、植物、種子用 抽出液	カタログ番号	容量	希望販売価格
	E7526-24ML	24 mL	¥21,300
Extraction Solution	E7526-120ML	120 mL	¥117,500
	E7526-1L	1 L	¥546,600
哺乳類用 調製溶液	カタログ番号	容量	希望販売価格
Tissue Preparation Solution	T3073-30ML	30 mL	¥61,400
血液用 溶解溶液	カタログ番号	容量	希望販売価格
Lysis solution for blood	L3289-2.5ML	2.5 mL	¥12,500

中和液・希釈液

哺乳類、種子用 中和溶液	カタログ番号	容量	希望販売価格
Neutralization Solution B	N3910-24ML	24 mL	¥14,100
植物用 希釈液	カタログ番号	容量	希望販売価格
Dilution Solution	D5688-1L	1 L	¥520,100
血液用 中和溶液	カタログ番号	容量	希望販売価格
Neutralization Solution for Blood	N9784-25ML	25 mL	¥18,900
	N9784-250ML	250 mL	¥127,600

GenElute™ LPA Linear Polyacrylamide

GenElute LPA Linear Polyacrylamideは、ピコグラム単位の少量の核酸をエタノール沈殿する際に有効な中性キャリアーです。

LPAを使用した場合、核酸は遠心するだけで沈殿として回収することができるばかりでなく、tRNAやグリコーゲンなどの他のキャリアーと比べ、DNA回収やDNA-タンパク間相互作用の研究に対して様々な利点があります。たとえばtRNAは、ポリヌクレオチドキナーゼによるDNAのリン酸化を妨害し、グリコーゲンはDNA-タンパク間相互作用の研究の際にタンパクと競合します。これに対しLPAは完全に不活性であり、かつ化学的に合成されたものなので、サンプルへの生体物質の混入の心配はありません。LPAを添加すると直ちに沈殿物が確認でき、低温でのインキュベーションなどは不要です。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
GenElute-LPA	56575-1ML	1 mL	¥18,200

グリコーゲン

グリコーゲンはDNAやRNAのエタノール沈殿の際にキャリアーとして使用されます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
Glycogen for DNA precipitations	G1767-1VL	1 mL	¥37,900

イソプロパノール (2-プロパノール)

エタノールに比べると50%以下の量で核酸抽出が可能のため、抽出液量を抑えることができます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
	I9516-25ML	25 mL	¥3,100
2-Propanol for molecular biology, ≥ 99.5%	I9516-4X25ML	4 x25 mL	¥4,400
	I9516-500ML	500 mL	¥6,200

リゾチーム

多くの微生物の細胞壁中に存在するN-アセチルムラミン酸とN-アセチルグルコサミン間のβ-1,4結合を加水分解します。グラム陽性およびグラム陰性菌からの核酸抽出時の溶菌に使用されます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
	L4919-500MG	500 mg	¥10,100
Lysozyme from chicken egg white	L4919-1G	1 g	¥25,800
	L4919-5G	5 g	¥84,100

ポリエチレングリコール

DNAの沈殿などに使用されます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
Poly (ethylene glycol)	P5413-500G	500 g	¥12,800
	P5413-1KG	1 kg	¥18,400
	P5413-2KG	2 kg	¥40,100

プロテイナーゼK

プロテイナーゼKはヌクレアーゼを含めた様々なタンパク質を分解するため、DNAやRNAの精製に使用されます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
Proteinase K lyophilized powder, BioUltra, ≥ 30 units/mg protein, for molecular biology	P2308-5MG	5 mg	¥11,700
	P2308-10MG	10 mg	¥13,500
	P2308-25MG	25 mg	¥16,700
	P2308-100MG	100 mg	¥32,600
	P2308-500MG	500 mg	¥141,800
	P2308-1G	1 g	¥261,600
	P2308-5X1G	5 x 1g	¥609,700
Proteinase K buffered aqueous glycerol solution, for molecular biology, ≥ 800 units/mL	P4850-1ML	1 mL	¥11,700
	P4850-5ML	5 mL	¥33,600

リボヌクレアーゼA

DNAサンプル中のRNA分解に使用されます。

製品名	カタログ番号	容量	希望販売価格
Ribonuclease A from bovine pancreas lyophilized, for molecular biology, ≥ 70 Kunitz units/mg protein	R6513-10MG	10 mg	¥5,300
	R6513-50MG	50 mg	¥17,700
	R6513-250MG	250 mg	¥64,500
	R6513-500MG	500 mg	¥109,400
	R6513-1G	1 g	¥184,600
Ribonuclease A from bovine pancreas solution of 50% glycerol, 10mM Tris-HCL pH 8.0	R4642-10MG	10 mg	¥5,200
	R4642-50MG	50 mg	¥15,700
	R4642-250MG	25 mg	¥45,600
	R4642-1G	1 g	¥118,300

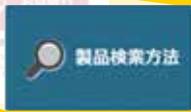
製品の検索方法

Sigma.com にアクセス



製品名、カタログ番号などを入力

検索結果画面の説明や、より高度な検索方法はこちらをご覧ください



シグマアルドリッチの遺伝子実験関連カタログ



RBM013 :
プラスミドDNA精製キットカタログ
2017



RBM011 :
RNA 精製キットカタログ2017

ご請求はこちら→ <https://goo.gl/g52xJV>

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのであらかじめご了承ください。記載価格に消費税は含まれておりません。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Sigma-Aldrich Co. LLC の登録商標もしくは商標です。ABI PRISM and BigDye are registered trademarks of Applied Biosystems Corporation or its subsidiaries in the US and/or certain other countries. SYBR is a registered trademark of Life Technologies. 本誌記載の内容は 2017 年 5 月時点の情報です。©2017 Sigma-Aldrich Co. LLC. All rights reserved.

シグマアルドリッチ ジャパン

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品に関するお問い合わせは、弊社テクニカルサービスへ

TEL : 03-6756-8245 FAX : 03-6756-8302

E-mail : sialjpts@sial.com

在庫照会・ご注文方法に関するお問い合わせは、弊社カスタマーサービスへ

TEL : 03-6756-8275 FAX : 03-6756-8301

E-mail : sialjpcs@sial.com

www.sigma-aldrich.com/japan

シグマアルドリッチ ジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

お問い合わせは下記代理店へ

[RBM012]1705-3K/F