Sigma-Aldrich

プラスミドDNA精製キットカタログ 2017

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

MERCK

目次

プラスミドDNA精製

ミニプレップキット …… 4
ハイパフォーマンス ミニプレップキット …… 5
5分間ミニプレップキット …… 6
ハイパフォーマンスミディ＆マキシプレップキット …… 7
ハイパフォーマンスメガプレップキット …… 9

エンドトキシンフリー精製

ミディプレップキット …… 10
ハイパフォーマンスメガプレップキット …… 11
ハイパフォーマンスギガプレップキット …… 12

高分子量プラスミド精製

BAC DNA精製キット …… 16

関連製品

バキュームマニホールド …… 17
プラスミドDNA精製関連試薬 …… 18

プラスミドDNA精製キットセレクションガイド

SigmaのGenElute™（ジーンエリュート）は世界中の研究者に使われている核酸精製キットです。
ミニプレップからメガプレップまでの培養量に対応し、エンドトキシンフリーのプラスミド精製用キットもご用意しています。

製品番号	使用回数	使用する培養量	期待収量	作業時間目安	精製のタイプ
ミニプレップキット GenElute Plasmid Miniprep Kit					
PLN10-1KT	10回分	1.5 mL	20 µ g まで	30分以内	遠心
PLN70-1KT	70回分				
PLN350-1KT	350回分				
ハイパフォーマンスミニプレップキット GenElute HP Plasmid Miniprep Kit					
NA0150S-1KT	10回分	1～5 mL	25 µ g まで	30分以内	吸引または遠心
NA0150-1KT	70回分				
NA0160-1KT	350回分				
5分間ミニプレップキット GenElute Five-Minute Plasmid Miniprep Kit					
PFM10-1KT	10回分	0.4 mL まで	5 µ g まで	5分間	吸引または遠心
PFM50-1KT	50回分				
PFM250-1KT	250回分				
ハイパフォーマンス ミディプレップキット GenElute HP Plasmid Midiprep Kit					
NA0200S-1KT	4回分	50 mL	350 µ g まで	30分	吸引または遠心
NA0200-1KT	25回分				
ハイパフォーマンス マキシプレップキット GenElute HP Plasmid Maxiprep Kit					
NA0300S-1KT	4回分	150 mL	1.2 mg まで	30分	吸引
NA0300-1KT	10回分				
NA0310-1KT	25回分				
ミディプレップキット GenElute Plasmid Midiprep Kit					
PLD35-1KT	35回分	20～40 mL	300 µ g まで	45分	遠心
マキシプレップキット GenElute Plasmid Maxiprep Kit					
PLX15-1KT	15回分	25～200 mL	1.2 mg まで	45分	遠心
PLX50-1KT	50回分				
ハイパフォーマンスメガプレップキット GenElute HP Plasmid Megaprep Kit					
NA0500-1KT	5回分	150 mL～1 L	5 mg まで	90分	吸引

製品番号	使用回数	使用する培養量	期待収量	作業時間目安	精製のタイプ
エンドトキシンフリー　ミディプレップキット GenElute Endotoxin-free Plasmid Midiprep Kit					
PLED35-1KT	35回分	5～40 mL	250 µ g まで	95分以内	遠心
エンドトキシンフリー　ハイパフォーマンスマキシプレップキット GenElute HP Endotoxin-Free Plasmid Maxiprep Kit					
NA0400S-1KT	4回分	150 mL	1.2 mg まで	40分	吸引
NA0400-1KT	10回分				
NA0410-1KT	25回分				
エンドトキシンフリー　マキシプレップキット GenElute Endotoxin-Free Plasmid Maxiprep Kit					
PLEX15-1KT	15回分	25～200 mL	1.2 mg まで	2時間	遠心
エンドトキシンフリー　ハイパフォーマンスメガプレップキット GenElute HP Endotoxin-Free Plasmid Megaprep Kit					
NA0600-1KT	5回分	200 mL～1 L	5 mg まで	90分	吸引
エンドトキシンフリー　ハイパフォーマンスギガプレップキット GenElute HP Select Plasmid Gigaprep Kit					
NA0800-1KT	5回分	2.5 L まで	15 mg まで	2時間	吸引

製品番号	使用回数	使用する培養量	期待収量		精製のタイプ
高分子量プラスミドを精製　PhasePrep ™ BAC DNA Kit					
NA0100-1KT		5～500 mL	2～100 µ g まで		遠心

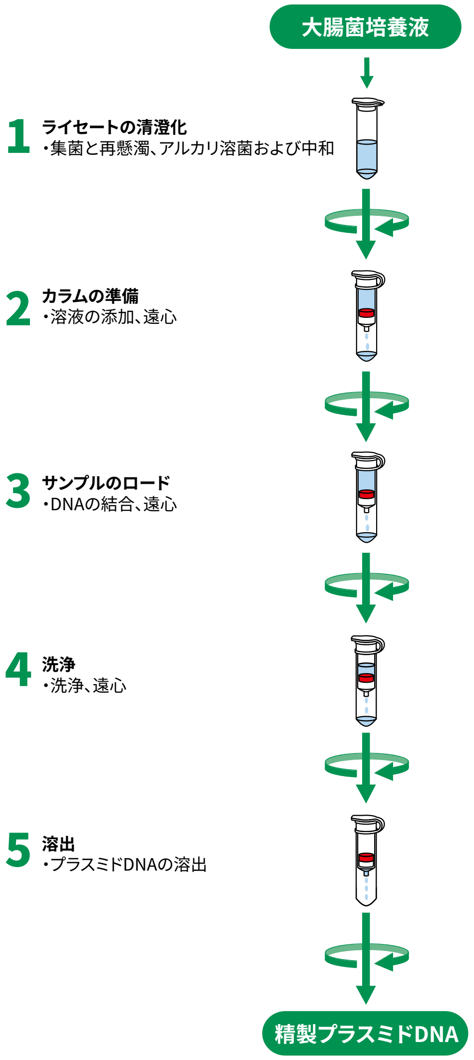
プラスミドDNA精製

ミニプレップキット
GenElute™ Plasmid Miniprep Kit
(ジーンエリュート プラスミドミニプレップキット)

大腸菌培養液からのプラスミドDNAの精製に

シグマのGenElute Plasmid Purification Kitは、リコンビナント大腸菌培養液からプラスミドDNAを簡便、迅速かつ低コストで分離することができる製品です。シリカメンブレンテクノロジーとスピンカラムを組み合わせた方法で、培養した培養液1 mLから30分以内に最高20µg（高コピー数プラスミドの場合）のDNAを精製することができます。

オーバーナイトで培養したリコンビナント大腸菌を改変アルカリSDS溶解法で溶菌し、DNAを高塩濃度下でシリカに吸着させます。簡単な洗浄により夾雑物を除いた後、最後に水またはTris-EDTAバッファーでDNAを溶出します。精製したプラスミドDNAは主にスーパーコイル構造を取っています。アガロースゲル電気泳動による確認からは、ゲノミックDNAまたはRNAの混入は認められません。得られたDNAは、制限酵素処理、クローニング、PCR、トランスフェクション、シークエンシングなどにそのまま使用することができます。



特長と利点

- **培養液1 mLから30分以内に最高20µgのプラスミドDNAを精製**
- **陰イオン交換カラムを用いた自然滴下より短時間で精製**
- **ゲノムDNAやRNAの混入のないスーパーコイル構造のプラスミドDNAを精製**
- **フェノール/クロロホルム抽出やアルコール沈殿は不要**
- **EndA^{+} *E. coli* 株（HB101、JM101、BL21など）からの精製用に、追加洗浄液が付属**

High Quality Plasmid DNA for Automated Sequencing

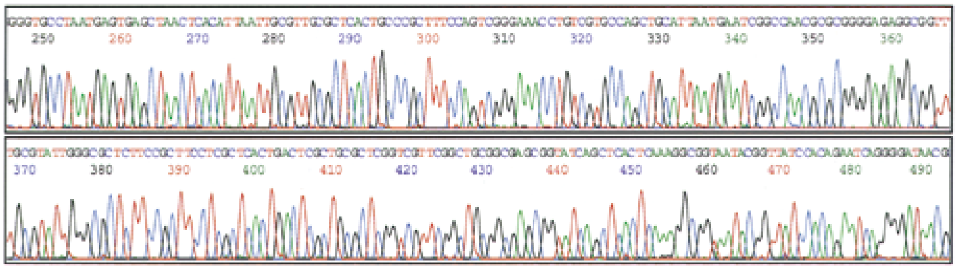


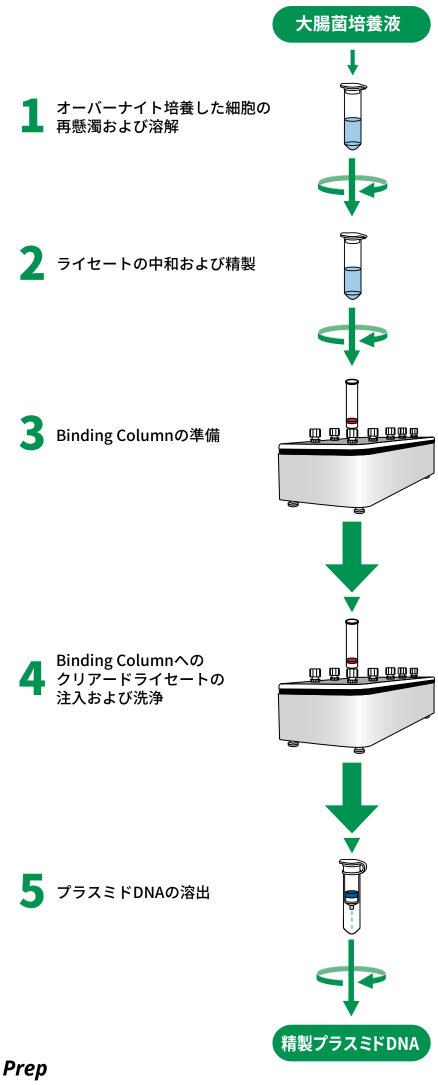
Figure 1. シークエンスの結果
GenElute Plasmid MiniprepKitで精製したプラスミドDNAのシークエンス解析の結果です。500 ngのpUC-TMVをT7シークエンスプライマー、ABI BigDye®Terminatorを用いてABI Prism® 377XLでシークエンス解析を行いました（4.5% Auto PAGE™ Plus acrylamide 48 cmゲルで2.4 kV、48°C、7時間泳動）600 base以上のシークエンシングが可能です。

定番のプラスミド精製キット

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute Plasmid Miniprep Kit	PLN10-1KT	10	¥4,300
	PLN70-1KT	70	¥9,000
	PLN350-1KT	350	¥43,400

プラスミド
DNA精製

ハイパフォーマンス ミニプレップキット
GenElute™ HP Plasmid Miniprep Kit
(ジーンエリュート ハイパフォーマンス プラスミドミニプレップキット)



GenElute HP Plasmid Miniprep Kitは高純度プラスミドDNAを30分以内に精製するためのキットです。このキットは、Binding Columnを吸引、または遠心による精製方式で使用できるようになっています。アルコール沈殿を行なう必要がありません。

手順：オーバーナイト培養した組換え大腸菌を遠心分離で回収し、改変アルカリSDS溶解法で溶菌したのちに、高塩濃度存在下でプラスミドDNAをシリカに吸着させます。吸引または遠心による洗浄操作で夾雑物を取り除きます。最後に、水またはTris-EDTAバッファーで、シリカ層に結合しているプラスミドDNAを溶出させます。

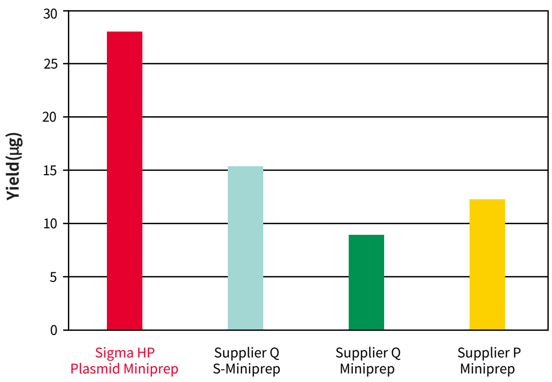
用途：得られる高純度のDNAはトランスフェクション、制限酵素処理、ライゲーション、自動シークエンシング、PCRなどの最も要求水準の高い用途にそのまま用いることができます。

特長と利点

- **高コピー数プラスミドDNAを30分以内に最大25μg精製**
- **吸引または遠心方式のいずれも実施可能**
- **コスト削減と労力を削減し効率的なプラスミドDNA精製が可能**

溶出ステップは、より高いDNA濃度にも対応可能です。高濃度プラスミドを精製する場合は溶出バッファー添加後、標準プロトコルにある3000 x *g*ではなく1000 x *g*で5分間遠心して下さい。これにより、収量は90%になりますが、約3倍の濃度の溶出液が得られます。

Average Yield per Prep



Average Time per Prep

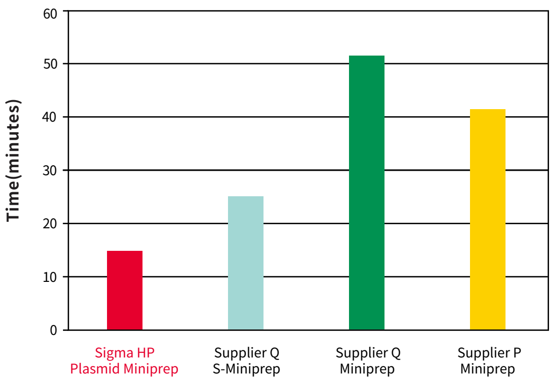
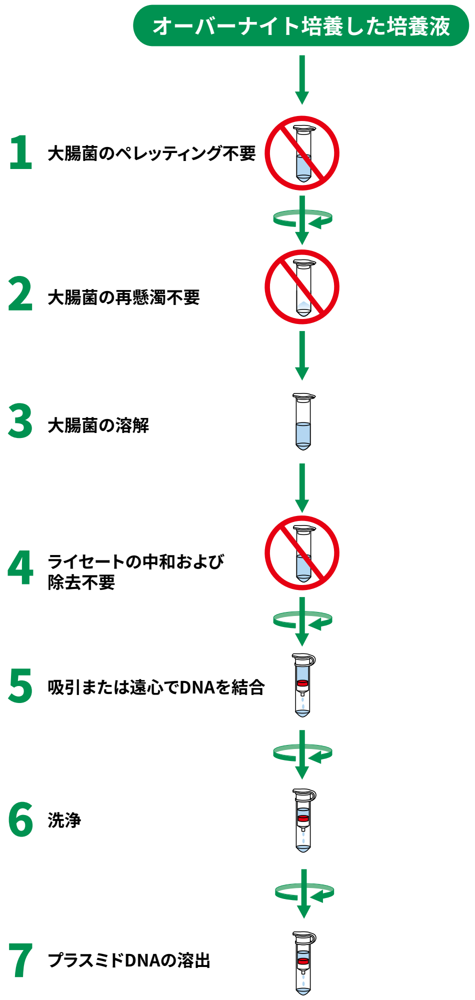


Figure 1. プラスミドpCMV1-Sport-β-galの単離に用いたさまざまな精製システムのプラスミド収量および調製時間の比較
左のグラフは、シグマアルドリッチのGenElute HP Plasmid Miniprep Kit、Q社のキットおよびP社のキットによる1回の調製の平均収量を示しています。右のグラフは、GenElute HP Plasmid Miniprep Kit、Q社のキットおよびP社のキットによる1回の調製の平均時間を示しています。プラスミドDNAはすべて、各メーカーの推奨するプロトコールに従って単離しました。

遠心と吸引のどちらも可能

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute HP Plasmid Miniprep Kit	NA0150S-1KT	10	¥4,000
	NA0150-1KT	70	¥16,100
	NA0160-1KT	350	¥42,900

5分間ミニプレップキット
GenElute™ Five-Minute Plasmid Miniprep Kit



GenElute Five-Minute Miniprep Kitは大腸菌培養液から最大5µgの高純度のプラスミドDNAが約5分で得られるきわめて簡素化されたプロトコルが特長のキットです。

手順：2 mL Collection Tubeに400µLの大腸菌培養液を入れます。細胞を1～2分間溶解します。Binding Solutionを加え、その混合液をDNA結合カラムに通します。DNA結合カラムを洗浄して微量の夾雑物を取り除いたのちに、プラスミドDNAを10 mM Tris HCl（pH 8.5）で溶出させます。分子生物学グレードの水を溶出液に用いることもできます。

用途：得られたDNAは、キャピラリーDNAシークエンシング、クローンスクリーニング、制限酵素処理およびPCRに適しており、そのまま用いることができます。

特長と利点

- **細胞ペレットの作製、またはライセートの除去が不要**
- **DNA結合カラムは標準的な吸引マニホールドに対応し、遠心法式も可能**
- **400 µLの大腸菌培養液から最大5µg、または15回のシークエンシング反応に十分な量のプラスミドDNAを回収**
- **開始から終了までわずか5分**

Purified Plasmid DNA is Especially Suited for Automated Sequencing

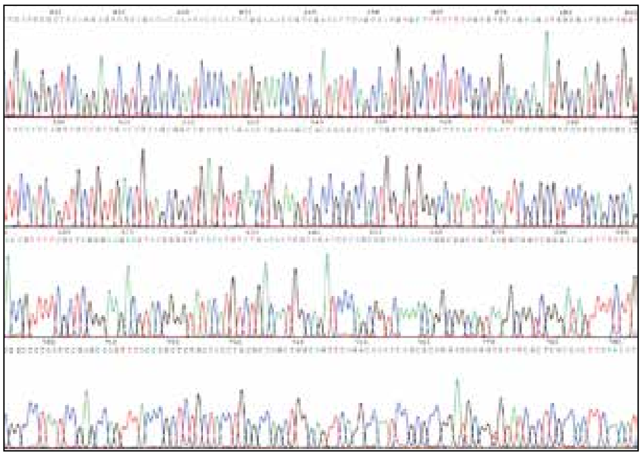


Figure 1. GenElute Five-Minute Plasmid Miniprep Kitで精製したプラスミドDNAのキャピラリーDNAシークエンシング
宿主大腸菌株DH5α™をオーバーナイト培養した培養液400µLからGenElute Five-Minute Plasmid Miniprep KitでpCMV-SPORT-β-gal（7.9 kb）を調製しました。この調製物のDNA濃度を調整して得たサンプル5µLをSeqWright DNA Technology Service（ヒューストン、テキサス州）に送付し、T7シークエンシングプライマー、ABI BigDye® Terminator v3.1およびABI Prism® 3730 DNA Analyzerによるシークエンシングを委託しました。PHRED QV値>20の解読長は905 baseでした。

Achieve Consistent Yields and Quality for Common Applications

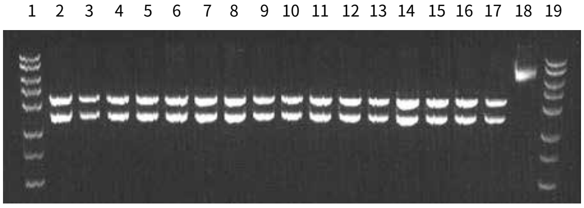


Figure 2. GenElute Five-Minute Plasmid Miniprep Kitで精製したpCMV-SPORT-β-gal DNAの制限酵素処理分析
レーン1および19：1 kb DNA Ladder（製品番号D0428）、レーン2～17：独立した16のプラスミドの少量調製、レーン18：未切断のpCMV-SPORT-β-gal DNA。それぞれの酵素処理は、*Eco*R IおよびXho Iを各3ユニット、溶出液3µLを加えて全量を15µLとし、37°Cで1時間行ないました。各反応液の4分の1を1%のアガロースゲル電気泳動で分離しました。

多数のサンプルに最適

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute Five-Minute Plasmid Miniprep Kit	PFM10-1KT	10	¥6,100
	PFM50-1KT	70	¥14,100
	PFM250-1KT	250	¥60,800

プラスミド
DNA精製

ハイパフォーマンスミディ＆マキシプレップキット
GenElute™ HP Plasmid Midi & Maxiprep Kit

30分以内でプラスミドDNAを精製できるMidiprep & Maxiprepキット

他社類似品と比較して短時間で高品質なプラスミドを精製できるキットです（Fig.1）。このキットでは清澄化ライセートの調製にフィルターを用いており、吸引法と遠心法の両方で使える結合カラムを使用しています。

本キットではオーバーナイトで培養したリコンビナント大腸菌を集菌し、改変アルカリSDS溶菌法で溶菌させ、フィルターシリンジを用いてクリアードライセートを調製した後DNAをシリカメンブレンに吸着させます。洗浄して夾雑物を除き、最後に水またはTris-EDTAバッファーでDNAを溶出します（Fig. 2）。精製された高純度DNAはトランスフェクション（Fig. 3）、制限酵素消化（Fig. 4）、ライゲーション、シークエンシング（Fig. 5）等のアプリケーションに使用できます。

特長と利点

- **高純度のプラスミドDNAを30分以内に精製**
- **高コピー数のプラスミドを最高350 μg（Midiprep）、1.2 mg（Maxiprep）精製**
- **吸引法と遠心法のどちらにも使用可能**
- **他社製品に比べて用いるプラスチック製品の数が少なく廃棄物を軽減**
- **フェノール/クロロホルム抽出やアルコール沈殿は不要**
- **キットは室温で安定に保存可能**

GenElute HP Plasmid Kitsのプロトコール、所要時間

1 菌体の再懸濁および溶菌—3〜5分

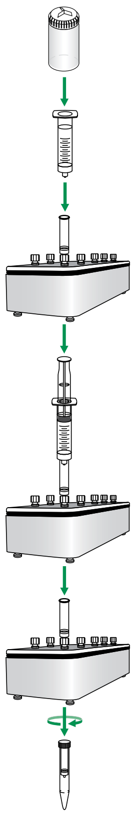
2 フィルターシリンジ中での中和—5分

3 カラムの準備
・溶液の添加、吸引

4 クリアードライセートの調製およびカラムへの結合
・ライセートのろ過およびカラムへのアプライ—5分

5 洗浄
・洗浄溶液の添加および吸引によるカラムの乾燥—10分

6 溶出
・遠心—5分



精製プラスミドDNA
所要時間　30分以内

Preparation Time for different Maxiprep plasmid purification kits

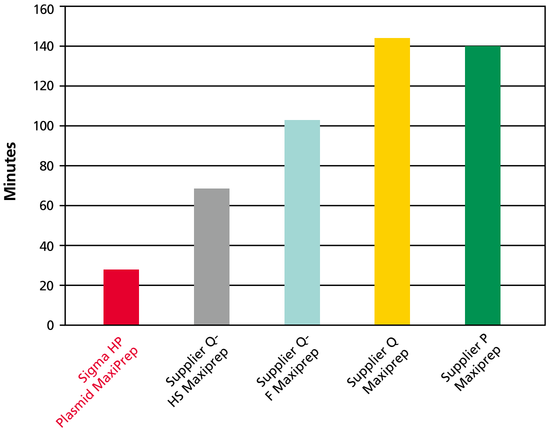


Figure 1. 各社Maxiprep Kitの所要時間比較
各キットのプロトコールに従って複数回DNAを精製したときの平均所要時間。

Plasmid DNA Yield for different Maxiprep Kits

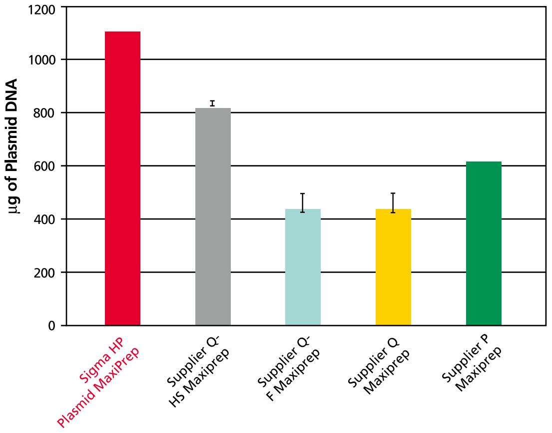


Figure 2. 各社Maxiprep KitのプラスミドDNAの収量比較
各キットのプロトコールに従って2回DNAを精製したときの平均収量。

Transfection of cells with plasmid isolated with different plasmid purification kits.

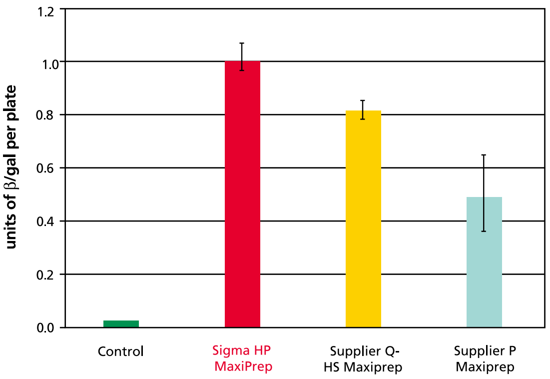


Figure 3. 各社キットで精製したプラスミドDNAによるトランスフェクション効率
Plasmid：pSPORT-CMV-β-Gal 3μg / Escort™IV 15μg
Host：CHO-K1細胞、60 ～ 70% confluency
トランスフェクション後54時間でのプレートあたりのβ-Gal活性を、β-Galactosidase Reporter Gene Activity Detection Kit（製品番号GAL-A）を用いて測定。3サンプルの平均値。

Purified plasmid DNA is suitable for restriction enzyme digestions.

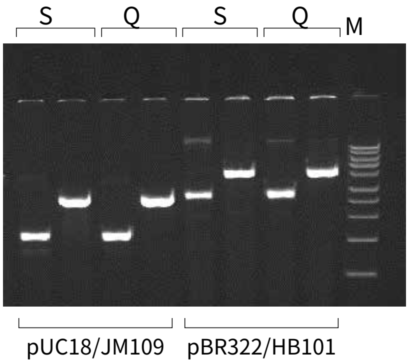


Figure 4. 各社キットで精製したプラスミドDNAの制限酵素処理
プラスミドDNA（800 ng）を10 Unitsの*Hind* IIIで37℃、4時間消化、1% アガロースゲル、TBEバッファーで泳動しました。
左：未消化プラスミド、右：消化プラスミド
S：Sigma、Q：Q社、M：サイズマーカー 1 kb DNA Ladder（製品番号D0428）

High Quality DNA for Automated Sequencing

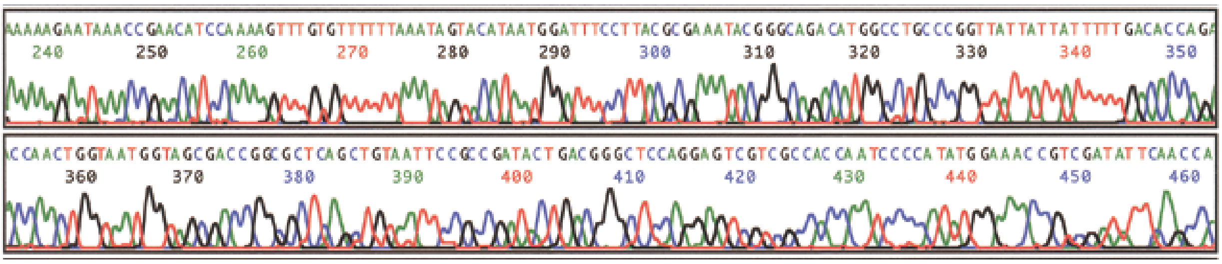


Figure 5. シークエンスの結果
GenElute™ HP Plasmid Midiprepで精製したプラスミドDNAのシークエンスの結果を500 ngのpSPORT-CMV-β-GalをT7シークエンスプライマー、ABI BigDye® Terminatorを用いてABI Prism® 377XLでシークエンス解析を行いました（4.5% Auto PAGE™ Plus acrylamide 48 cmゲルで2.4 kV、48℃、7時間泳動）。700 base以上のシークエンシングが可能です。

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute™ HP Plasmid Midiprep Kit	NA0200S-1KT	4	¥15,800
	NA0200-1KT	25	¥26,900
GenElute™ HP Plasmid Maxiprep Kit	NA0300-1KT	4	¥29,500
	NA0310-1KT	10	¥58,800
	NA0300S-1KT	25	¥20,700

関連製品　遠心によるプラスミド精製　MidiPrepキット

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute™ Plasmid Midiprep Kit	PLD35-1KT	35	¥15,100

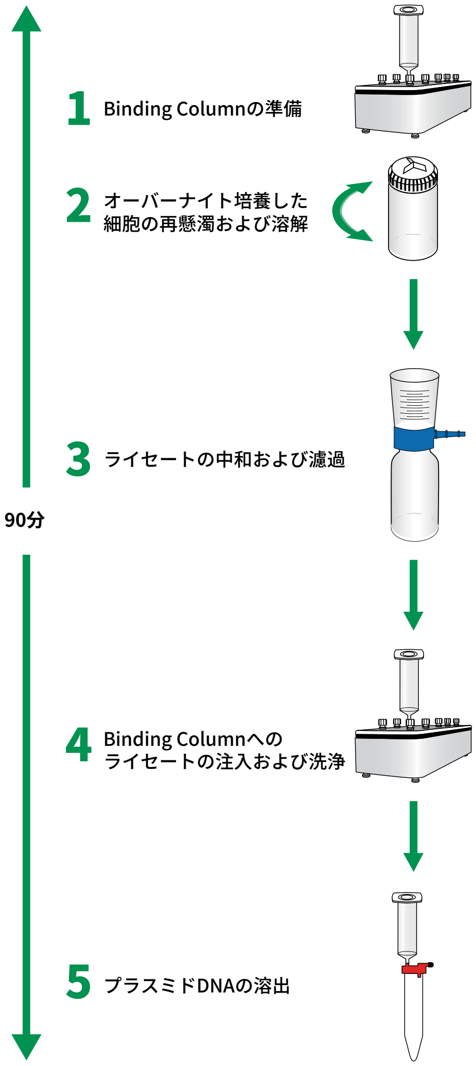
プラスミドDNA精製

ハイパフォーマンスメガプレップキット
GenElute™ HP Plasmid Megaprep Kit

GenElute HP Plasmid Megaprep Kitは、簡単、迅速かつ済的な方法によって、組換え大腸菌の培養液からプラスミドDNAを単離するキットです。この高性能のキットは、ライセートを速やかに精製し、DNAとシリカとを結合させるための吸引濾過ユニットを特長としています。大腸菌を培養したLB培地200 mL～1.0 LまたはTB培地200～600 mLから高コピー数プラスミドDNA 5 mgを1.5時間以内に回収することができます。

手順：オーバーナイトで培養した組換え大腸菌を遠心分離で回収し、改変アルカリSDS溶解法で溶菌したのちに、高塩濃度存在下でシリカ膜にDNAを吸着させます。夾雑物は、吸引による洗浄操作で除去します。続いて、結合しているDNAをElution Solution（Tris-HCl）または水で溶出させます。

用途：得られた高純度のDNAは、トランスフェクション、クローニング、制限酵素処理、自動シークエンシングおよびPCRなどのアプリケーションにそのまま用いることができます。



特長と利点

- **5 mgの高純度プラスミドDNAを90分以内に精製**
- **エタノール沈殿が不要な吸引方式**

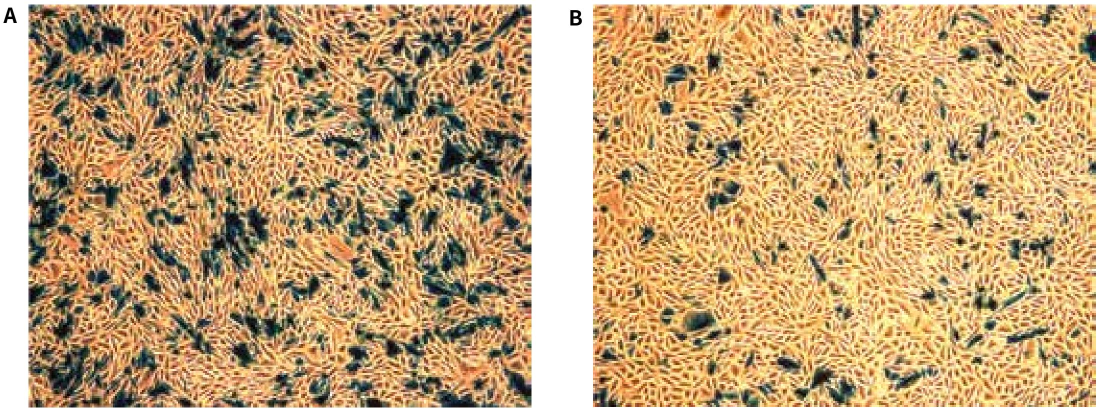


Figure 1. 異なる精製システムによるトランスフェクション効率のX-gal染色による比較。
Aは、GenElute HP Plasmid Megaprep Kitで単離したプラスミドDNAをトランスフェクトした細胞を示し、Bは、Q社のMegaprep Kitで単離したプラスミドDNAをトランスフェクトした細胞を示しています。CHO-K1 細胞へのトランスフェクションは、GenElute HP Plasmid Megaprep KitまたはQ社のキットで単離したプラスミドDNA 3μgを、ESCORT™ II Transfection Reagentで細胞に導入しました。画像は、トランスフェクションの48時間後にβ-gal染色したものを示しています。トランスフェクション効率は、GenElute HP Plasmid Megaprep Kitで単離したプラスミドDNAを用いているAのほうがBよりも高いことがはっきりとわかります。

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute HP Plasmid Megaprep Kit	NA0500-1KT	5	¥53,400

エンドトキシン
フリー精製

エンドトキシンフリー ミディプレップキット GenElute™ Endotoxin-free Plasmid Midiprep Kit

トランスフェクション効率の高い エンドトキシンフリープラスミドDNAの精製

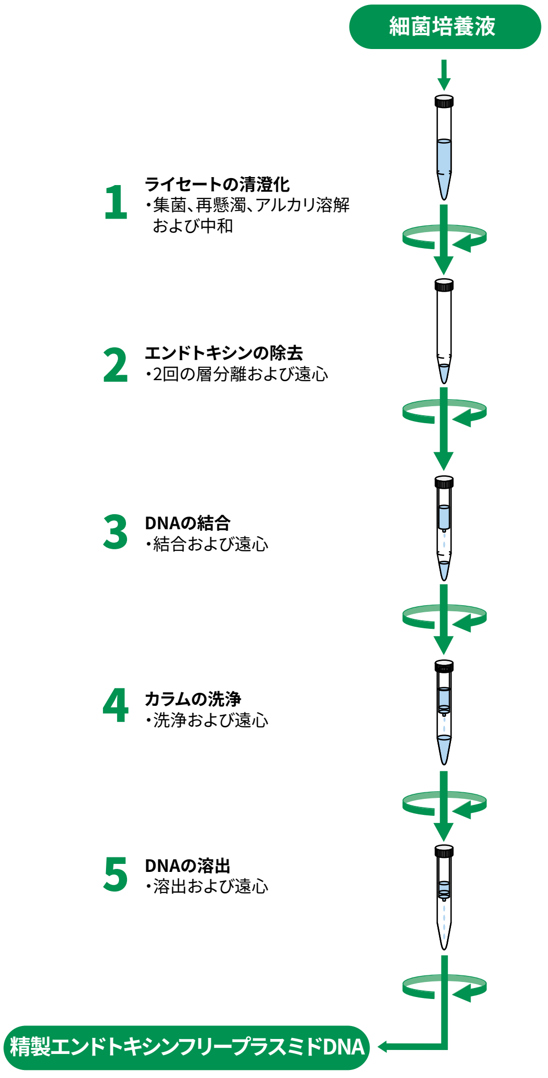
エンドトキシン（リポ多糖類、LPS）は、プラスミドDNAとともに精製されることが多く、エンドトキシン感受性細胞株へのトランスフェクション効率を大幅に低下させるおそれがあります。GenElute Endotoxin-free Plasmid Midiprep Kitは、高いトランスフェクション効率を得るために、簡単、迅速かつ経済的な方法で0.1 EU/μg DNA以下のプラスミドDNAを精製するキットです（Fig. 1および2）。

オーバーナイト培養した培養液から組換え大腸菌を遠心分離で回収し、改変アルカリSDS溶解法でライセートを清澄化します。簡単な抽出 - 層分離操作で、ライセートからエンドトキシンを除去します。高塩濃度存在下でプラスミドDNAをシリカに吸着させることによって、さらに精製します。単純な遠心-洗浄操作を行なったのちに、エンドトキシンフリーの水で、結合プラスミドDNAを溶出させます。5～40 mLの培養液から最大250 μgのエンドトキシンフリープラスミドDNAを調製することができます。

回収したプラスミドDNAは主にスーパーコイル構造になっています。臭化エチジウムで染色したアガロースゲルには、ゲノムDNAまたはRNAのコンタミネーションは見られません。DNAは、トランスフェクション、エンドヌクレアーゼを用いる制限酵素処理、クローニング、シークエンシングおよびPCR増幅などの用途にそのまま用いることができます。

特長と利点

- **高収量かつ、高いトランスフェクション効率**
- **エンドトキシンフリープラスミドDNA（≦0.1 EU/μg DNA）を2時間以内に最大250μg精製**
- **高価な磁気装置が不要**



遠心操作にはスイングローターが必要です。

Table 1.

	MidiPrep
オーバーナイト培養した培養液の容量	5-40 mL
エンドトキシンフリープラスミドDNAの収量	最大250 μg
時間	
遠心分離＋インキュベーション	＜80分
その他の操作時間	＜15分
延べ時間	＜95分
溶出量	1 mL

高い収量でプラスミドを回収するためには新鮮なオーバーナイトカルチャーを使用してください。

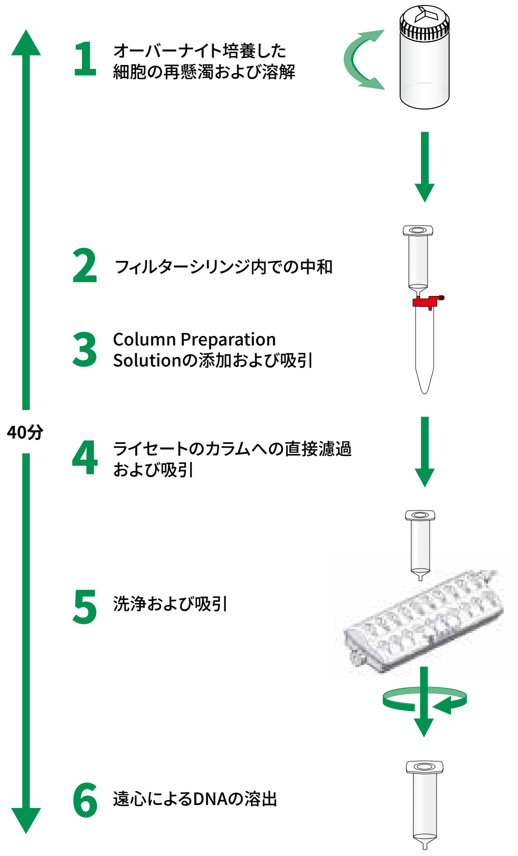
大腸菌を保存する場合は、遠心後液体培地を除去し、ペレットを-70° Cで保管してください（最長1ヶ月まで）。あるいは-20° Cで2-3日間なら、プラスミドの回収に影響を与えることなく保管できます。

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute Endotoxin-free Plasmid Midiprep Kit	PLED35-1KT	35	¥18,000

エンドトキシンフリー精製

エンドトキシンフリー
ハイパフォーマンスマキシプレップキット
GenElute™ HP Endotoxin-Free Plasmid Maxiprep Kit

GenElute HP Endotoxin-free Plasmid Maxiprep Kitは、斬新かつ効率的な方法によって、エンドトキシンフリープラスミドDNAを40分で単離するキットです。エンドトキシン除去プロセスによって高純度でエンドトキシンフリーのDNA（≦0.1 EU/μg）を最も効率的かつ迅速に精製できるプロトコルになっています。



特長と利点

- **大腸菌の回収から高純度プラスミドDNA精製までわずか40分**
- **自然滴下カラムを用いない簡便な吸引方式**
- **エンドトキシンフリー（≦0.1 EU/μg）のプラスミドDNAを最大で1.2 mg精製**
- **高収率キットにより大幅なコスト削減を実現**

エンドトキシン感受性細胞株への効率的なトランスフェクション

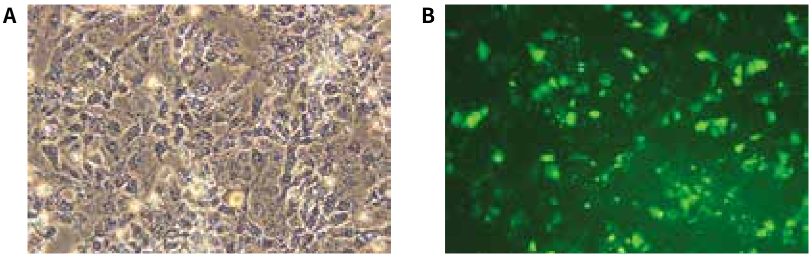


Figure 1. プラスミドpCop-Green-Cによるトランスフェクション効率の評価。
プラスミドpCop-Green-Cは、カイアシ類（copepod）由来の緑色蛍光タンパク質をエンコードする哺乳動物細胞用発現ベクターです。HuH-7細胞をカバーグラスに播種し、60～70%コンフルエントに達するまで増殖させました。続いて、GenElute HP Endotoxin-free Maxiprep Kitを用いて単離したプラスミドDNA3μgをESCORT™ II TransfectionReagentで細胞へトランスフェクションを行ないました。トランスフェクションの72時間後に蛍光顕微鏡下で細胞を観察しました。Aはトランスフェクション後の細胞を明視野で撮影したものです。Bは同じ部位を蛍光視野で撮影したものであり、トランスフェクション効率が高いことがわかります。
＊pCop-Green-CはEvrogen JSCからの使用許諾を得ています。

高い収量かつ低エンドトキシン濃度のプラスミドDNA精製がさらに短時間化

精製システム	プラスミドの収量（mg）	エンドトキシン濃度（EU/μg）	調製時間（分）
GenElute HP Endotoxin-free Maxiprep Kit	**1.4**	**0.02**	**35**
Endo-free Anion-Exchange-based Kit	0.7	0.04	165
Endo-free Silica-Magnetic-based Kit	1.3	0.17	150
2x Cesium Chloride-gradient	0.3	1.4	3 days

さまざまな精製システムでpCMV-SPORT-β-galを精製した場合のプラスミドの収量、エンドトキシン濃度および調製時間の比較

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute HP Endotoxin-Free Plasmid Maxiprep Kit	NA0400S-1KT	4	¥14,300
	NA0400-1KT	10	¥33,500
	NA0410-1KT	25	¥67,600

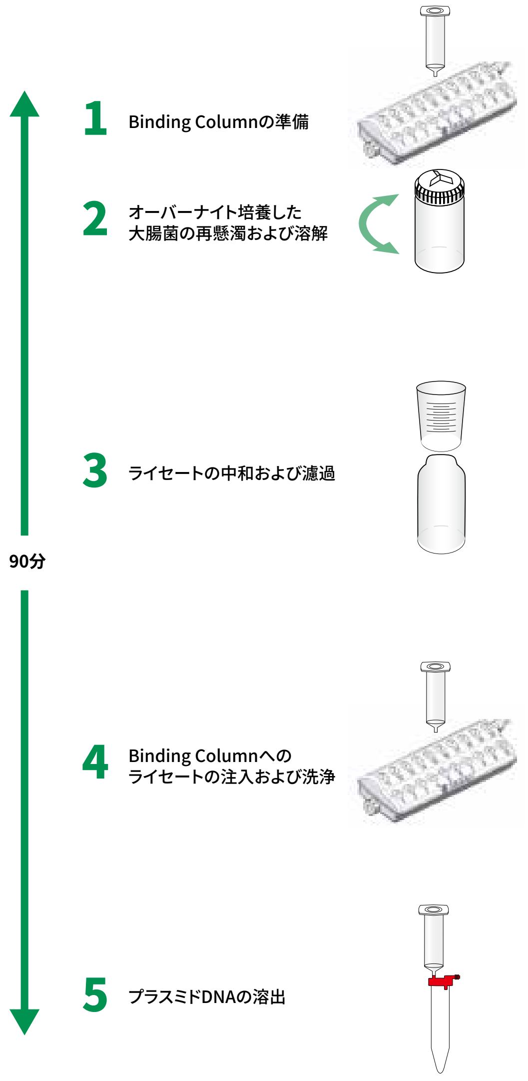
エンドトキシン
フリー精製

エンドトキシンフリー
ハイパフォーマンスメガプレップキット
GenElute™ HP Endotoxin-Free Plasmid Megaprep Kit

GenElute HP Endotoxin-free Plasmid Megaprep Kitでは、エンドトキシンフリープラスミドDNAを90分以内に単離します。このキットは、0.1 EU/µg以下でDNAを単離できるエンドトキシン除去システムを特長としています。簡便な吸引方式を用いており、アルコール沈殿を行なう必要がないため、エンドトキシンフリープラスミドDNAを迅速に単離することができます。

手順：オーバーナイト培養した組換え大腸菌を遠心分離で回収し、改変アルカリSDS溶解法で溶菌します。ライセートを濾過して精製したのちに、エンドトキシンフリープラスミドの調製用に最適化されているBinding Solutionを添加します。続いて、高塩濃度存在下でプラスミドDNAをシリカメンブレンに吸着させます。エンドトキシンはシリカメンブレンには吸着されません。2回の洗浄操作で夾雑物を除去します。続いて、エンドトキシンフリーの水で、結合DNAを溶出させます。

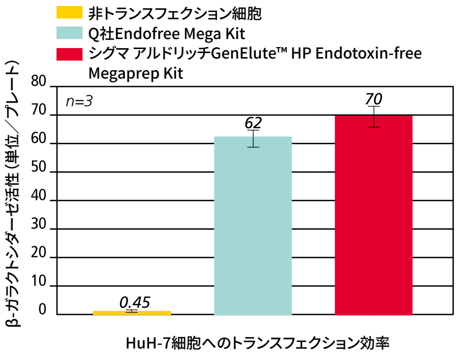
用途：得られる高純度かつエンドトキシンフリーのDNAは、エンドトキシン感受性細胞へのトランスフェクションをはじめとするアプリケーションにそのまま用いることができます。



特長と利点

- **大腸菌の回収から高純度プラスミドDNA精製まで90分**
- **エタノール沈殿が不要な吸引方式**
- **高コピー数プラスミドの場合、エンドトキシンフリー（≦0.1 EU/µg）プラスミドDNAを5 mg回収**
- **コストおよび労力の削減が可能**

エンドトキシン感受性細胞株へのトランスフェクション



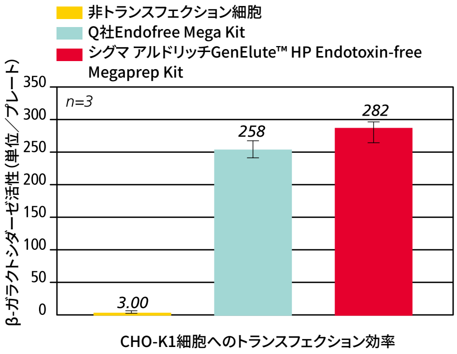


Figure 2. 高コピー数プラスミドDNA pCMV-SPORT-β-gal/DH5α™のトランスフェクション効率について、エンドトキシン感受性細胞系HuH-7細胞とエンドトキシン非感受性細胞株CHO-K1細胞を比較
グラフは、評価する2種類の細胞系ごとに同じ試験を3回繰り返した時の平均値および標準偏差を示しています。非トランスフェクションHuH-7細胞およびCHO-K1細胞は、プラスミドDNAを含まないトランスフェクション試薬で処理しました。

> *"I switched to Sigma's GenElute™ HP Plasmid Purification Kits because the yield is much higher, the purity is better or equal to my previous method and, importantly, it takes me only a quarter of the time."*
>
> – Waldemar Popik, Johns Hopkins University

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute™ HP Endotoxin-Free Plasmid Megaprep Kit	NA0600-1KT	5	¥72,500

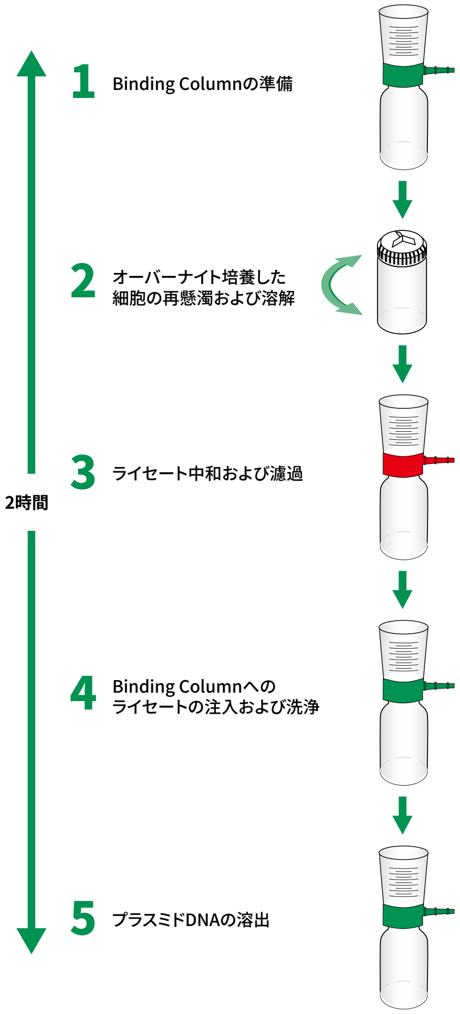
エンドトキシンフリー精製

エンドトキシンフリー
ハイパフォーマンスギガプレップキット
GenElute™ HP Select Plasmid Gigaprep Kit

GenElute HP Select Plasmid Gigaprep Kitでは、簡単、迅速かつ経済的な方法によって、組換え大腸菌培養液からエンドトキシンフリープラスミドDNAを単離します。大腸菌培養液から15 mgの高コピー数プラスミドDNAを0.1 EU/μg以下のエンドトキシン濃度で回収することができます。高純度かつエンドトキシンフリーのDNAは、エンドトキシン感受性細胞へのトランスフェクション、遺伝子治療研究をはじめとするアプリケーションに用いることができます。

手順：オーバーナイト培養した組換え大腸菌を遠心分離で回収し、改変アルカリSDS溶解法で溶菌します。ライセートをろ過して精製したのちに、エンドトキシンフリープラスミドの調製用に最適化されているBinding Solutionを添加します。続いて、高塩濃度存在下でプラスミドDNAをシリカメンブレンに吸着させます。エンドトキシンはシリカメンブレンには吸着されません。3回の洗浄操作で夾雑物を除去します。最後に、エンドトキシンフリーの水で、結合DNAを溶出させます。

用途：得られる高純度かつエンドトキシンフリーのDNAは、エンドトキシン感受性細胞へのトランスフェクション、遺伝子治療をはじめとするアプリケーションにそのまま用いることができます。



特長と利点

- **HP Select技術を利用した最も優れたプラスミド精製法**
- **15 mgの高純度かつエンドトキシンフリー（≦0.1 EU/μg）プラスミドDNAを2時間以内に回収**
- **エタノール沈殿が不要な吸引方式**
- **低、中、高コピー数のプラスミドDNA精製に使用可能**

保存温度：**室温**

Isolate DNA from Low-, Medium-, and High-copy Plasmids

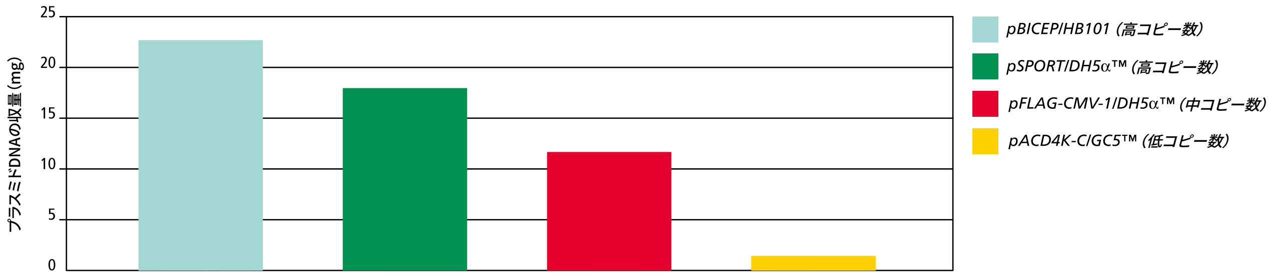


Figure 1. GenElute™ HP Select Plasmid Gigaprep Kitを用いて得られたさまざまな構造をもつプラスミドDNAの最高収量

Transfect Endotoxin-Sensitive Cell Lines

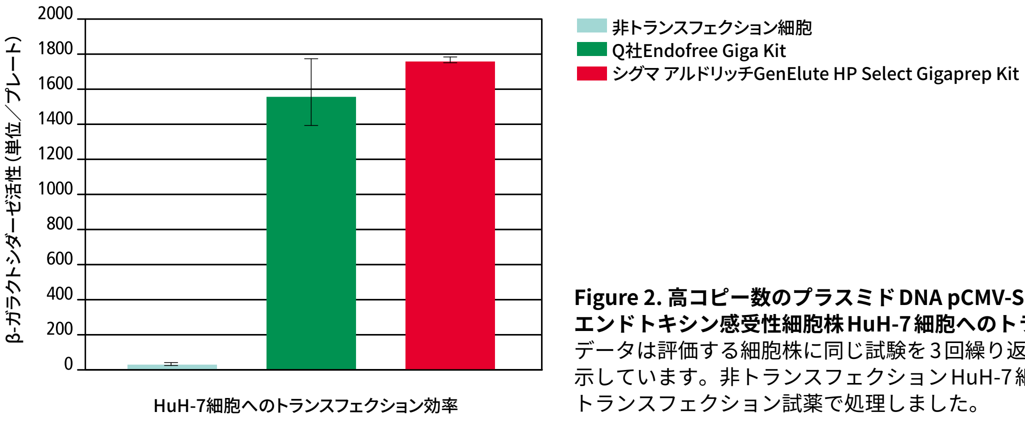


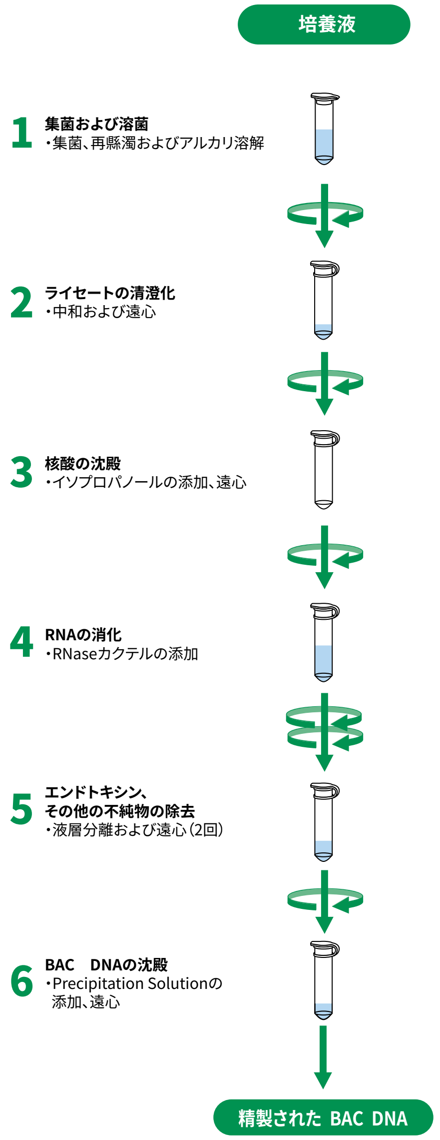
Figure 2. 高コピー数のプラスミドDNA pCMV-SPORT-β-gal/DH5α™の エンドトキシン感受性細胞株HuH-7細胞へのトランスフェクション効率の比較
データは評価する細胞株に同じ試験を3回繰り返した時の平均値および標準偏差を示しています。非トランスフェクションHuH-7細胞は、プラスミドDNAを用いずにトランスフェクション試薬で処理しました。

本キットに付属するLystae Clearing Agentはプレフィルトレーションと同様の結果をもたらします。そのため可溶化液の調製時に、1ステップ省略することができます。Clearing Agentを可溶化液に添加し、よく混合後5分してからろ過するだけです。

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
GenElute HP Select Plasmid Gigaprep Kit	NA0800-1KT	5	¥124,700

高分子量 プラスミド精製

BAC DNA精製キット PhasePrep™ BAC DNA Kit



BAC DNAを迅速に精製できるキット スケールアップも容易です

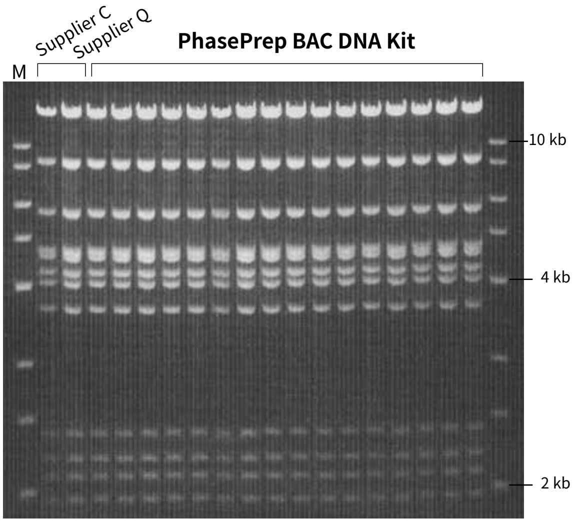
PhasePrep BAC DNA Kitはリコンビナント大腸菌からBacterial Artificial Chromosome（BACs）のような高分子量プラスミドDNAを迅速かつ安価に精製できるキットで、サンプル量に合わせてスケールアップも容易です。

液層分離による精製法で、Micro、Mini、Midi、Maxi の各サイズに簡単に適用できます。5、40、250、500 mLのリコンビナント大腸菌のオーバーナイト培養液からそれぞれ最高2、12、60、100 μgのBAC DNAを精製することができます。

キットには、Micro 300回分、Mini 180回分、Midi 30回分、Maxi 15回分に相当する試薬が入っています。精製されたBAC DNAのエンドトキシン量は非常に低く、制限酵素消化（Fig. 1）、シークエンシング（Fig. 2）、PCR、クローニングやその他のアプリケーションにそのまま用いることができます。

特長と利点

- **5 ～ 500 mLの大腸菌 のオーバーナイト培養液から 2 ～ 100 μgのDNAを精製**
- **フェノール/クロロホルム抽出は不要**
- **1つのキットでMicroスケールからMaxiスケールまで使用可能**
- **遠心法式によって短時間で精製可能**



Purified BAC DNA is suitable for restriction digestion.
Figure 1. 精製したBAC DNAの制限酵素処理
E.coli HB101bより精製したpbelloBAC11、1 μgを20 Unitsの*Eco*RVで37°C、4時間消化半量を1%アガロースゲルで電気泳動しました。
分子量マーカーは1 kb DNA Ladder（製品番号D0428）

High Quality BAC DNA for Automated Sequencing

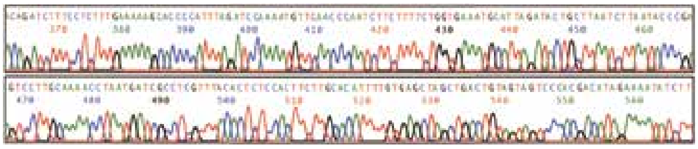


Figure 2. シークエンスの結果
PhasePrep BAC DNA Kitで精製したBAC DNAのシークエンスの結果
シークエンサー：ABI Prism® 3700、ABI BigDye® Terminator

製品名	カタログ番号	使用回数	販売希望価格
PhasePrep BAC DNA Kit	NA0100-1KT	micro 300 回 mini 180 回 midi 30 回 maxi 15 回	¥64,100

バキュームマニホールド
Sigma VM20 Vacuum Manifold

Sigma VM20 Vacuum Manifoldは、シグマの核酸またはタンパク質精製カラムをより効率的に使うための吸引マニフォールドです。同時に20サンプルまで処理でき、階段状のデザインでカラムの装着が容易です。2つの真空接続ポートが複数の廃棄物収集配置パターンを可能にします。廃棄物は、マニフォールド本体内に溜めることも、ネジ山付き排水ポートを通して接続したタンク等に溜めることもできます。繰り返しの使用に強く、薬品耐性のある二方コックを使っています。

特長と利点

- **ハイスループット**
  同時に20サンプル処理できます
- **無限の容量**
  ポートが2つあるので、廃棄物をマニフォールド本体内または接続したタンク等に溜められます
- **革新的なデザイン**
  階段状のデザインでカラムが設置しやすくなっています
- **利便性**
  栓の代わりに二方コックを採用
- **耐久性**
  本体は薬品耐性のあるポリプロピレン製

適合性

下記シグマ商品と使用できます。

- **GenElute™ HP Plasmid Miniprep Kits**
- **GenElute Five-Minute Plasmid Miniprep Kits**
- **GenElute HP Plasmid Midiprep Kit**
- **GenElute HP Plasmid Maxiprep Kit**

製品名	カタログ番号	入数	販売希望価格
VM20 Vacuum Manifold	VM20-1SET	1個	¥29,100

プラスミドDNA精製関連試薬

GenElute™ LPA Linear Polyacrylamide

GenElute LPA Linear Polyacrylamide（LPA）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、サンプルへの生体由来物質の混入の心配がありません。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	販売希望価格
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	販売希望価格
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なため、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	販売希望価格
2-Propanol for molecular biology, ≥ 99.5%	I9516-25ML	25 mL	¥3,100
	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	販売希望価格
Lysozyme from chicken egg white	L4919-500MG	500 mg	¥10,100
	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	販売希望価格
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	販売希望価格
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	販売希望価格
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

RBM012：
ゲノムDNA 精製&ダイレクトPCR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 Applera Corporation or its subsidiaries in the US and/or certain other countries. DH5 α is a trademark of Invitrogen Corp. 本紙記載の内容は 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。

お問合せは下記代理店へ

[RBM013]1705-3K/F

Sigma-Aldrich