

Oragene で DNA を多量に採取するためのポイント

1. 推奨する唾液量を採取してください

推奨する唾液採取量は 2ml です。唾液の採取量が少ないとそれに比例して DNA 採取量が少なくなります。容器に入っている Oragene 溶液の容量は 1.9ml です。よって、唾液 2ml と Oragene 溶液の全量は 3.9ml になります。

2. 被験者によって DNA 採取量の違いが予測されます

Oragene/唾液混合液 4ml から採取できる平均 DNA 量は 110ug です。しかし、この採取量は最低 15ug から最大 300ug に及びます。同じ検体から採取しても DNA 採取量は日によって変化します。

3. 唾液採取は 30 分以内に行ってください。

検体となる唾液は 30 分以内に採取し、すぐに容器のふたを閉めて保存溶液と混合して下さい。唾液の採取に 30 分以上かかると DNA 採取量、質の低下に繋がってしまいます。

4. DNA 実験のために DNA を抽出する場合は、50℃のインキュベーションを必ず行ってから使用してください。

唾液は粘性が高く、DNA を閉じ込めやすくなっています。50℃でのインキュベーションにより DNA を Oragene/唾液混合サンプルから引き出します。インキュベーションせずに検体を使用すると DNA 採取量が低くなります。

5. DNA を精製するために適量のアルコールを加えてください

遠心分離の後、上澄みに等量の室温エタノール(95~100%)を加えることが重要です。例えば 500ul のエタノールは 500ul の上澄みと混合してください。DNA を精製するために上澄みはエタノールとゆっくり、完全に混合する必要があります。通常上澄みにエタノールを混合するにつれ、白い物体 (DNA) が現れることがあります。必要量以上のエタノールまたは冷エタノールを加えると DNA 回収率が落ち、逆に不純物の混入を増加させてしまいます。

6. DNA をバッファーに溶解するには十分な時間を設けて下さい

Oragene から抽出した DNA は高分子のためバッファーに完全に溶けるまで時間を要します。バッファーは低塩バッファーや TE バッファーなどをお勧めします。DNA の完全な溶解のために室温で一晩インキュベーションを行い、DNA の最終濃度は 200ug/ml(200ng/ul)以下に調整することを推奨します。

エタノール沈殿を行った後、サンプルを乾燥することはお勧めしません。これは溶解時間を延ばす原因となります。50℃のインキュベーションを 10 分行うことによって溶解時間を短縮することができます。DNA が溶解したら使用する前にサンプルを軽く攪拌またはピペティングしてください。

7. DNA 採取量の測定

採取された 2ml の唾液が 1.9ml の Oragene 保存溶液と混合され、Oragene/唾液混合溶液は全量で約 4ml になります。この混合溶液からはトータルで DNA 採取量は 20ug 以上になるはずですが。

DNA 採取量の測定は吸光度計による測定で PCR や他の主なアプリケーションには十分です。さらに精度の高い測定方法として SYBR Green など蛍光色素を使用した蛍光分析による方法もあります。