

プラスミドDNA精製ガイド

MACHEREY-NAGEL (マッハライ・ナーゲル) 社製品

新規カラムフィルター

簡単操作でデブリス除去

→短時間調製が可能

シリカ樹脂担体の改良

高いDNA結合容量

→収量が大幅アップ

カラム直径が大きい

流速が飛躍的に向上

→短時間調製が可能



NEW!!

収量2倍! 時間半分!

NucleoBond® Xtra Midi/Maxi
NucleoBond® Xtra Midi/Maxi EF

遠心いらず! 手間いらず!

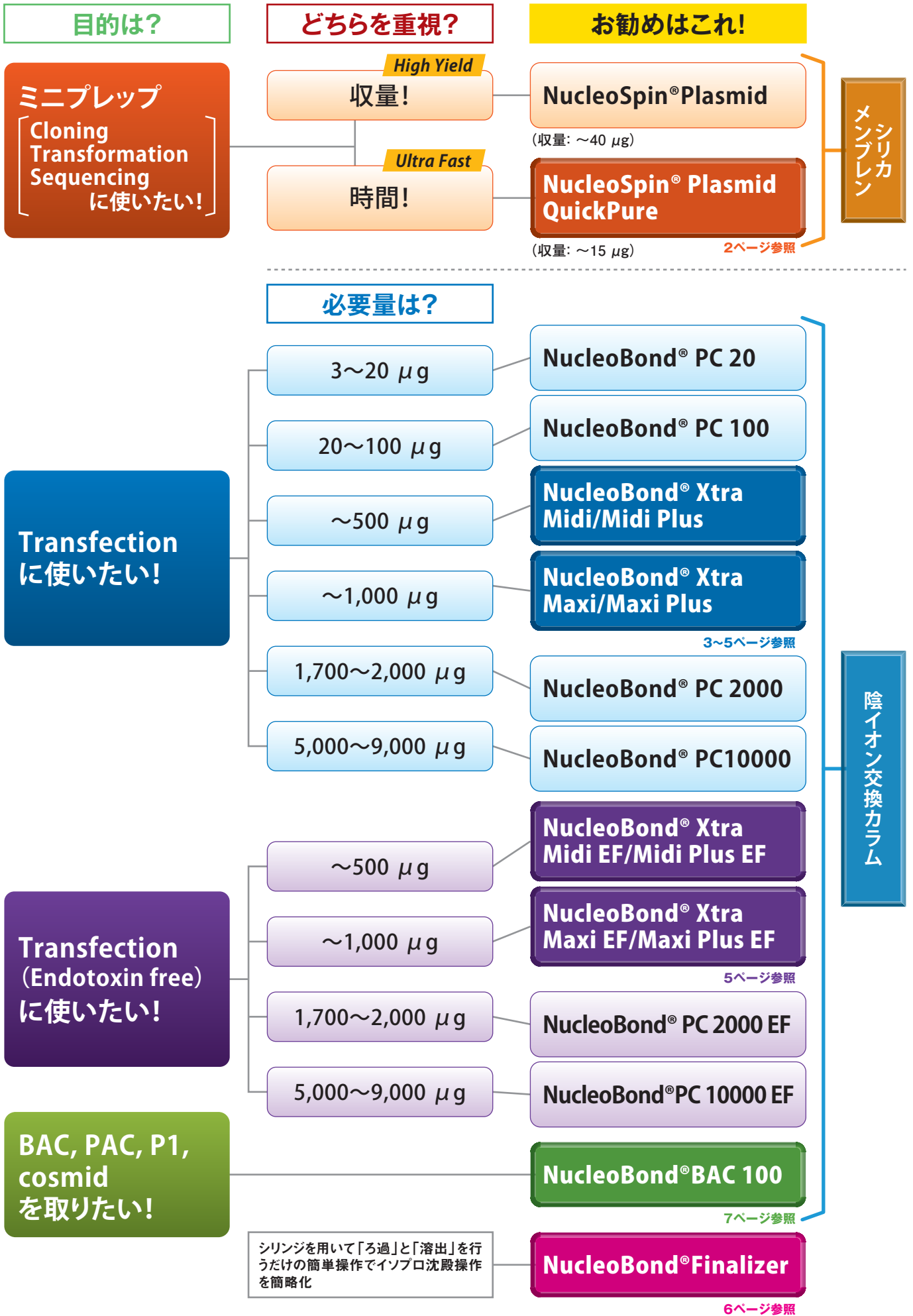


NucleoBond® Finalizer

わずか11分でplasmid調製

NucleoSpin® Plasmid QuickPure

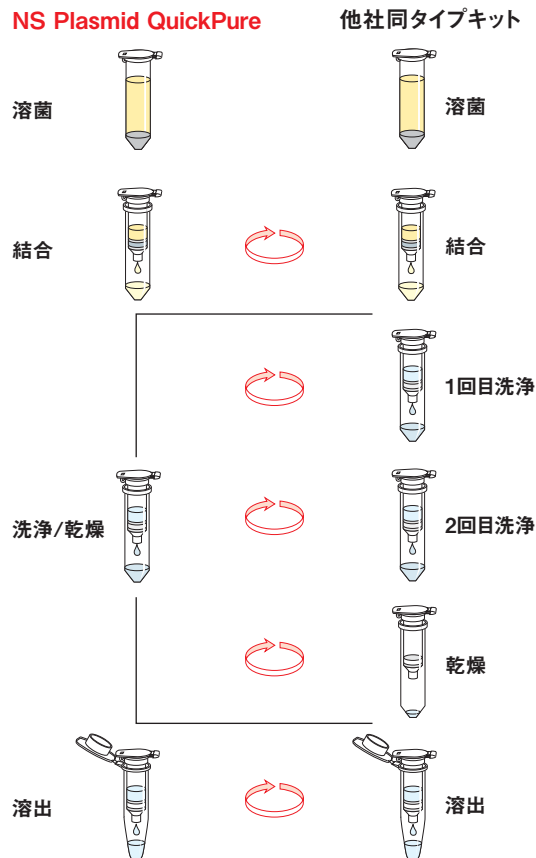
MACHEREY-NAGEL社 プラスミドDNA精製キット選択ガイド



わずか11分! シーケンスグレードのプラスミドをすばやく調製!

NucleoSpin® Plasmid QuickPure

【操作フローの比較】



● わずか11分

独自の処理を行ったシリカメンブレンを用いており、洗浄と乾燥を同時に行うことができます。これまで3ステップを要した洗浄・乾燥の操作が1ステップになり、操作時間わずか11分でシーケンスグレードのプラスミドDNAを調製可能です。

また、HB101、ABLE、JM110などヌクレアーゼの多い大腸菌株を宿主に用いる場合も、従来のキットでは必要であった追加操作が不要になりました。

● わずか4ステップ

NucleoSpin® Plasmid QuickPureの操作概要

1. 培養した大腸菌をアルカリ変性
2. 遠心分離後、上清をカラムにアプライ
3. バッファーAQを用いた1ステップの洗浄により夾雑物を除去
4. 低イオン強度条件下、アルカリ性のバッファーAEを用いて高純度のプラスミドDNAを溶出

**わずかな時間で
高純度プラスミドDNAを調製できます!**

製品仕様

	NucleoSpin® Plasmid QuickPure
原理	シリカメンブレン法
形状	ミニスピナカラム
精製可能なサンプル量	1~3 ml大腸菌培養液
プラスミドDNAサイズ	~15 kb
回収量	~15 µg
A260/280	1.80~1.85
溶出量	50 µl
精製時間	11分

製品リスト

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
NucleoSpin® Plasmid QuickPure	10回	740615.10	¥4,200
	50回	740615.50	¥10,500
	250回	740615.250	¥35,700

「もっと短時間でプラスミドを精製したい」…そんな研究者の要望に応えました!

NucleoBond® Xtra Midi/Maxi

NucleoBond® Xtra Midi/Maxiは陰イオン交換法を用いた新世代カラムです。

● 作業時間が60%も短縮!

- ・新規カラムフィルターの採用により、複数サンプルの同時操作性がアップ → ①
- ・新規カラムフィルターは表面加工により、詰まりを抑え高流速性を実現 → ①
- ・大きなカラム直径とシリカ樹脂量の最適化で高流速性を実現 → ③
- ・NucleoBond® Xtra PlusキットにはDNA濃縮を短時間で行うためのNucleoBond® Finalizerを添付しています。

● 収量が2倍にアップ!

- ・シリカ樹脂担体の改良によりDNA結合量を大幅にアップ → ②
- ・バッファー組成を最適化
- ・他の市販キットと比べて2倍量のプラスミドDNAを調製できます。

● 高純度!

- ・回収したDNAはそのまま様々な反応に利用可能です。
- ・トランスフェクショングレード
- ・マッハライ・ナーゲル社の陰イオン交換法は特許取得済みであり、高品質を保証します。

新規カラムフィルター

簡単操作でデブリス除去

→短時間調製が可能!

シリカ樹脂担体の改良

高いDNA結合容量

→収量が大幅アップ!

カラム直径が大きい

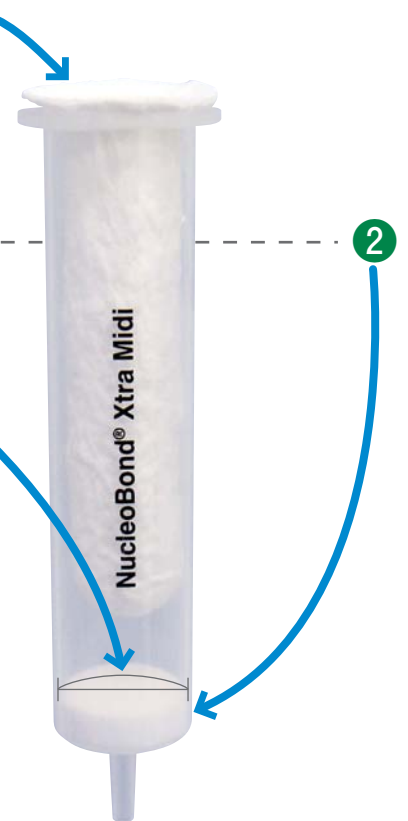
流速が飛躍的に向上

→短時間調製が可能!

①

②

③



■ 比較データ-1

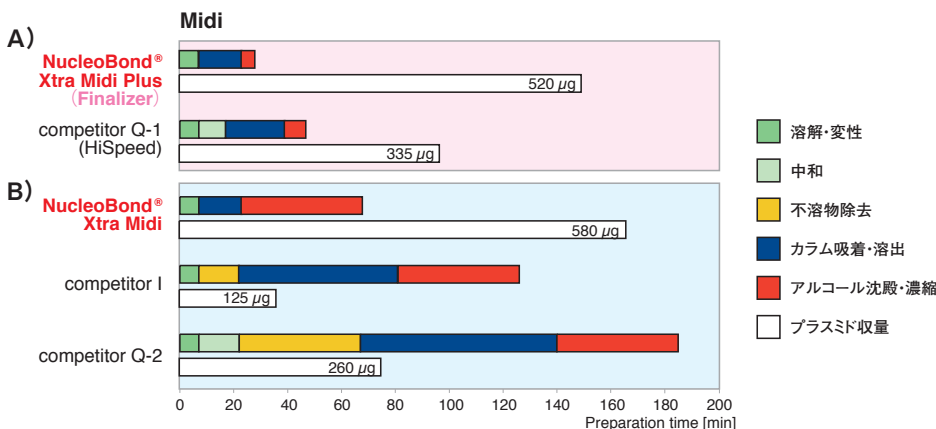


図1：他社陰イオン交換法キットとの作業時間および収量の比較

各製品のプロトコルに従い、高コピー数のプラスミドDNAを推奨範囲で最大量の培養液を用いて精製した。プラスミドDNAの収量(□)はカラム溶出後(濃縮操作前)の溶液で測定した。

A) DNA濃縮用ツールを含むキットの場合*

B) DNA濃縮用ツールを含まないキットの場合(遠心法を利用)

*DNA濃縮用ツールを用いた結果、いずれのキットでも90%程度までのDNAが回収できた。

比較データ-2

製品名	プラスミド収量 (μg)	所要時間(分)
NucleoBond® Xtra Midi Plus	580	28*
S社製品	300	37
P社製品	90	41
NucleoBond® Xtra Maxi Plus	1,230	34*
S社製品	1,130	40

*NucleoBond® Finalizer (DNA濃縮用ツール)を使用

表1：シリカメンブレン法のキットとの比較 (収量および作業時間)
各製品のプロトコルに従い、高コピー数のプラスミドDNAを推奨範囲で最大量の培養液を用いて精製した。

プラスミドDNAの収量はカラムから溶出した段階で測定した。

NucleoBond® Xtraは、シリカメンブレン法の他社キットに比べ、操作時間の短さ、収量の多さにおいて優れていることが示された。なお、陰イオン交換法を用いているため高純度である点も利点である。

比較データ-3

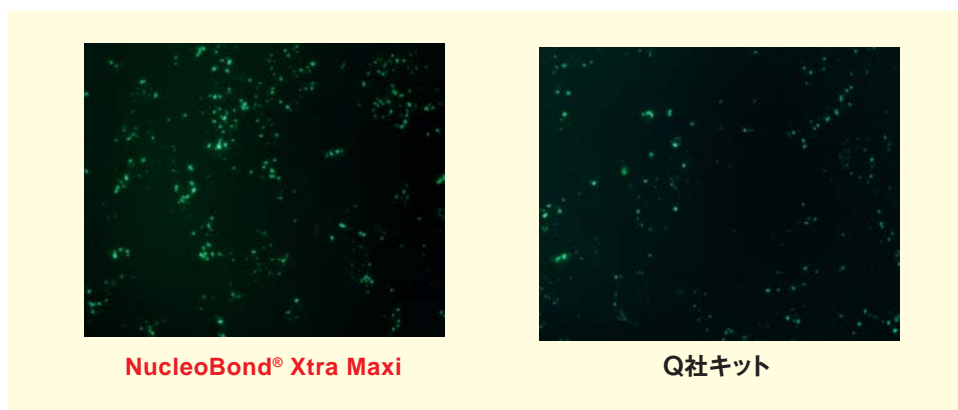


図2：NucleoBond® Xtra Maxiおよび他社キットで調製したプラスミドDNAを用いてトランスフェクション効率を比較

【方法】6 kbの高コピープラスミドとDH5αを使用。精製は各プロトコルに従い、培養液は推奨範囲の最大量を用いた。

・NucleoBond® Xtra Maxi : 収量 : 1,222 μg 純度 : A260/280=1.84

・Q社キット (Maxi prep) : 収量 : 557 μg 純度 : A260/280=1.86

12穴プレートに 2.5×10^4 cells/wellで接種したHEK293細胞を用い、ウェルあたり0.1~0.25 μgのプラスミドDNAと1.5 μlの市販のトランスフェクション試薬を使用して遺伝子導入を行った。48時間後に、Gephyrinが融合したEGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein)をレポーターとしてHEK293細胞での発現を観察した。

(Gephyrin: 後シナプス膜の受容体複合体と結合し、後シナプス膜形成に重要な役割を果たすポリペプチド)

【結果】NucleoBond® Xtra Maxiで精製したプラスミドは、Q社キットで精製したものに比べ高い遺伝子導入効率を示しました。

Data kindly provided Prof. Guenter Schwarz, Institute of Biochemistry, University of Cologne, Germany

製品仕様

	NucleoBond® Xtra Midi		NucleoBond® Xtra Maxi	
原理	陰イオン交換クロマトグラフィー法			
形状	自然落下型カラム			
精製可能な大腸菌培養液量	~200 ml (high copy) ~400 ml (low copy)		~600 ml (high copy) ~1,200 ml (low copy)	
プラスミドDNAサイズ	~300 kb			
標準的な回収量	250 μg		1,000 μg	
A260/280	1.8~1.95			
インプロパノール沈殿時の回収方法	Xtra Midi	Xtra Midi Plus	Xtra Maxi	Xtra Maxi Plus
	遠心分離	Finalizer	遠心分離	Finalizer
精製時間	70分	30分	80分	35分

製品リストは次頁へ

NucleoBond® Xtra Midi/Maxi

製品リスト

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
NucleoBond® Xtra Midi	10回	740410.10	¥13,700
	50回	740410.50	¥60,000
	100回	740410.100	¥105,000
NucleoBond® Xtra Midi Plus (Finalizer付き)	10回	740412.10	¥16,800
	50回	740412.50	¥75,000
NucleoBond® Xtra Maxi	10回	740414.10	¥28,400
	50回	740414.50	¥132,000
	100回	740414.100	¥263,000
NucleoBond® Xtra Maxi Plus (Finalizer付き)	10回	740416.10	¥34,700
	50回	740416.50	¥163,000

NucleoBond® Xtra Midi/Maxi EF

NucleoBond® Xtra Midi/Maxi にニューテクノロジーを融合させたキットで
エンドキシンプリープラスミドDNAを調製!

● 高いエンドキシンプリー除去効果!

・エンドキシンプリーレベルは、**0.05 EU/μg未満**
エンドキシンプリーに感受性の高い細胞のトランスフェクションに最適です。

● 作業時間が大幅に短縮(最大68%)!

・NucleoBond® Xtraでの工程に洗浄ステップが一つ加わっただけ
・他の市販のエンドキシンプリープラスミド調製キットと比べて、作業時間が大幅に短縮されました。

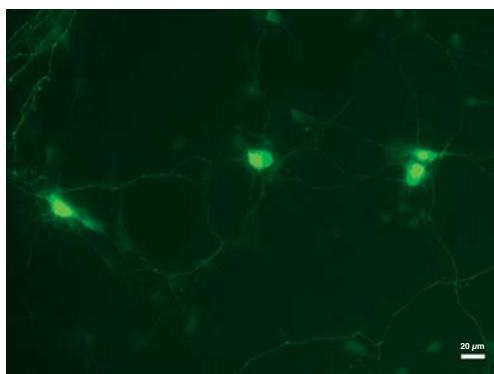
● 収量が2倍にアップ!

・基本仕様はNucleoBond® Xtraと同等のため、他の市販のキットと比べて2倍量のプラスミドDNAを短時間で調製できます。

→さらに簡単かつ短時間調製を行うには…

NucleoBond® Finalizerを含むNucleoBond® Xtra Midi/Maxi **Plus** EFがお勧めです。(6ページ参照)

■ 実験例：本製品で精製したプラスミドDNAによるラット海馬由来初代培養神経細胞への遺伝子導入



【方法】

プラスミド精製: GFP融合型Neuroigin(後シナプス膜タンパク質)を含む9 kbの高コピープラスミドDNAを、NucleoBond® Xtra Midi EFを用いて大腸菌株XL1-Blueから精製した。

遺伝子導入実験: ラット海馬由来初代培養神経細胞を6日間培養した後、ウェルあたり1 μgのプラスミドDNAを用いて遺伝子を導入した。遺伝子導入にはリン酸カルシウム法を用い、導入48時間後に蛍光顕微鏡で観察を行った。

【結果】

初代培養神経細胞において一過性の発現が認められました。

NucleoBond® Xtra EFで調製したプラスミドDNAは、遺伝子導入が難しい初代培養神経細胞においても問題なく導入できることが確認できました。

Data kindly provided by Dr. Nina Wittenmayer, Ruprecht-Karls-University Heidelberg, Institute for Anatomy and Cell Biology, Dept. of Medical Cell Biology, Heidelberg, Germany

■ **製品リスト** 各種サイズを取り揃えております。詳しい情報はタカラバイオウェブカタログをご覧ください。

(遺伝子工学研究 ▶ 製品情報 ▶ 核酸抽出・精製)

もう遠心は必要ありません! 簡単操作でイソプロ沈殿もらくらく!

NucleoBond® Finalizer/Finalizer Large

- **作業時間を90%削減!** (3ページ参照)
 - イソプロ沈殿の回収作業時間はわずか**5分!** 1時間の遠心操作はもう不要です。
- **そのままトランスフェクションに使用可能!**
 - 高濃度かつ高純度**なプラスミドDNAが調製ができるので、トランスフェクションにもそのままご使用いただけます。



NucleoBond® Finalizerは、NucleoBond® Xtraや NucleoBond® PCに適応しています。NucleoBond®カラムを用いて溶出したプラスミドDNAにイソプロパノールを加えた後、同梱のシリンジを用いてNucleoBond® Finalizerにロードします。Finalizerを通過する過程で結合したプラスミドDNAは、洗浄および乾燥ステップを経て、TEバッファーなどで高純度、高濃度に溶出することができます。少量の溶出液でも使用可能です (0.1 μg ~3.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の高純度プラスミドDNA調製)。時間を要するイソプロパノール沈殿の遠心分離ステップを省略でき、遠心後の見えにくいDNAペレットの消失やDNAの不溶化などの問題を簡単に回避することができます。

製品仕様

	NucleoBond® Finalizer	NucleoBond® Finalizer Large
原理	シリンジフィルター法	
プラスミドDNAサイズ	2~50 kb	
所要時間、回収量、濃度	5分、40~90%、0.1~3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	
溶出量	200 μl ~	400 μl ~
残留塩化物濃度	~0.3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	
結合容量	500 μg	2,000 μg
適合製品 (注1)	NucleoBond® PC 100/500/500 EF NucleoBond® Xtra Midi/Midi EF	NucleoBond® Xtra Maxi/Maxi EF

注1: NucleoBond® Midi/Maxi PlusやMidi/Maxi Plus EFにはNucleoBond® Finalizerがコンポーネントとして含まれています。

製品リスト

製品名	容量	製品コード	価格 (税別)
NucleoBond® Finalizer*	20回	740519.20	¥10,500
NucleoBond® Finalizer Large*	20回	740418.20	¥10,500

*2 × 30 ml, 2 × 1 mlのシリンジ同梱
上記のほか、20 × 30 ml, 20 × 1 mlのシリンジ同梱の製品もあります。ご入用の際はお問い合わせ下さい。

NucleoBond® BAC 100

● 300 kbまでの大型ベクター調製に!

● 独自のデブリス除去フィルターを使用

素早い過操作・穏やかなライセート処理でDNA断片化を抑制します。

お客様の声

これまで利用できた唯一のキット、それがNucleoBond®です。NucleoBond®を用いて精製したBACベクターによる形質転換では、塩化セシウムによるグラジエント超遠心法の2~3倍の効率が得られました。

Teh-hui Kao, Ph.D. and Andrew G. McCubbin, Ph.D.,
Department of Biochemistry and Molecular Biology, Eberly College
of Science Penn State University(USA)



製品仕様

	NucleoBond® BAC 100
原理	陰イオン交換クロマトグラフィー法
形状	自然落下型カラム
精製可能サンプル量	100~500 ml大腸菌培養液
ベクターサイズ	~300 kb
回収量	10~100 µg
A260/280	1.80~1.95
精製時間	120分

製品リスト

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
NucleoBond® BAC 100	10回	740579	¥36,800



本パンフレットに掲載した製品はマツハライ・ナーゲル社の製品です。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・本パンフレット記載の価格は2010年12月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。
・本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。

7

販売元

タカラバイオ株式会社

東日本販売課 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
西日本販売課 TEL 077-543-7297 FAX 077-543-7293

TaKaRa テクニカルサポートライン

製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。
TEL 077-543-6116 FAX 077-543-1977

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

取扱店