

PEG 沈殿による DNA の精製

(R.Kawai-Hirai)

1. LB 1.5 ml で培養。一晩の培養でおよそ 10 μ g 回収可。
シーケンスに要する量は、Dye terminator 法 1 反応につき 0.4 μ g 、
Dye primer 法 1 反応につき 1.2 μ g 。
2. 通常のアルカリ法(mini prep.) によりプラスミド DNA を調製。
ただし、最後は TE 50 μ l ではなく、dH₂O 33 μ l に溶解する。
PEG による沈殿では、分子量の比較的小さな DNA 断片は取り除けるが、
ゲノム DNA を取り除くことはできないので、電気泳動でサンプルの状態
を確認する。
3. 7 μ l 5 M NaCl と 40 μ l 13 % PEG6000(MW7500) を加え、20 min 氷冷。
(生理研 original ; 32 μ l sample + 8 μ l 4 M NaCl + 40 μ l 13% PEG8000)
4. 1500 rpm、 20 min、 4 で遠心。
5. ペレットを 500 μ l 70% EtOH で wash 。
6. ペレットを 500 μ l 70% EtOH で wash 。
7. 減圧乾燥。
8. 20 μ l dH₂O でサンプルを溶解、 - 20 で保存。