



[原著]

ゲノム DNA の簡易抽出法と品質評価

山口良考¹、藤井樹^{2,3}、中村蓮^{2,4}、岩淵由起²、渡辺雄大⁵、
飯塚信義⁶、山口孝一¹、伊藤記彦¹、片山博徳¹

¹ 国際医療福祉大学 成田保健医療学部 医学検査学科、

² 国際医療福祉大学大学院 医療福祉学研究科、

³ 国際医療福祉大学 ゲノム医学研究所、

⁴ 公益財団法人 かずさ DNA 研究所 ゲノム事業推進部 臨床オミックス解析グループ、

⁵ 国際医療福祉大学 成田病院 検査部、

⁶ 香取おみがわ医療センター 医療支援部臨床検査科

要旨

近年、遺伝子の病原性変異（病原性多型）が、疾患を診断できる検査項目となってきたおり、病理学や血液学検査などにおいても、疾患関連遺伝子を対象とした検査（遺伝学的検査、体細胞遺伝子検査など）で必要不可欠の項目となっている。がんゲノム医療においては、患者検体からのゲノム DNA が検査対象となり、その抽出／精製が必要不可欠の技法となっている。多くの場合、市販されているキットを用いてゲノム DNA が抽出・精製されているが、本研究では生活汎用品を用いて安全かつ安価にゲノム DNA を抽出する簡易抽出法（食塩法）を確立検討し、市販のキットで抽出したゲノム DNA との品質を比較した。市販のキットの抽出操作には、高速遠心機や専用のカラムや試薬を用いるのに対し、食塩法ではそれらを必要とせず、生活汎用品である中性洗剤や調理用食塩を用いて DNA を抽出することができる。

DNA 抽出キットと比較して、食塩法により得られたゲノム DNA の収量は 1.7 倍多く、電気泳動と制限酵素消化による結果より、本法で抽出したゲノム DNA はインタクトに近い状態であった。また 1 サンプルあたりの費用においても、安価に抽出できる。本法によるゲノム DNA 抽出は、同時に多くの検体を扱うことは難しいが、食塩法に用いる試薬は日常生活の汎用品であり、入手が容易であるため、教育分野や試薬・キットを消費してしまったなどの緊急時において活用できる手技である。

キーワード：ゲノム DNA、簡易抽出法、品質評価

序論

ヒトゲノムが解読されて約 20,000 種類の遺伝子が同定され、神経変性疾患であるハンチントン病では Huntingtin 遺伝子、自己免疫疾患である APECED では AIRE 遺伝子など、疾患の原因となる遺伝子が数

多く同定されている。現在では、臨床検査の現場においても患者個人がもつ疾患原因／関連遺伝子を調べることが必要不可欠な時代になってきている。その際、患者細胞からのゲノム DNA が検体となる。遺伝性／家族性の疾患が疑われる場合は、人体

連絡先：山口良考
国際医療福祉大学成田保健医療学部医学検査学科
〒286-8686 千葉県成田市公津の杜 4 丁目 3
Email: ymg@iuhw.ac.jp

2021 年 7 月 13 日受付
2021 年 8 月 27 日受理

を構成する約 37 兆個全ての細胞が検体の対象になりうるが、孤発性の場合には対象臓器の細胞からゲノム DNA を抽出する必要がある (1)。また、2018 年より本格的に行われている「がんゲノム医療」では、ゲノム DNA を検査対象として複数のがん関連遺伝子を調べる事により、治療方法や抗がん剤の種類などが決定されている (2, 3)。

現在、数社からゲノム DNA を抽出・精製するキットが販売されているが概ね、細胞を界面活性剤で溶解しゲノム DNA を溶出させ、カオトロピック塩存在下で DNA をシリカに結合させ、低塩濃度の溶液で DNA を溶出させる原理で高速遠心機も準備しなくてはならない。各社間でばらつきはあるが、1 検体からゲノム DNA を抽出するのに、おおよそ 300 円~500 円の費用がかかる。少数の検体であればキットで問題ないが、多くの検体を扱うときには多額の費用を費やす。本法では、上記界面活性剤の代わりに中性洗剤にて細胞を溶解させ、カオトロピック塩の代わりに調理用食塩と市販品エタノールにて DNA を析出させることで、極めて安価でかつ安全に精製キットと同等のゲノム DNA を抽出することができる。食塩を用いたゲノム DNA の抽出法はいくつか公開されているが (4, 5)、本研究では、制限酵素消化やヒストグラム解析、Qubit アッセイなどを行い、より詳細なゲノム DNA の品質評価を行った。

方法

実験用細胞

健常人ヒト皮膚線維芽細胞 (Human Dermal Fibroblast; HDF, KURABO) を研究材料に用いた。終濃度 10 % となるように仔ウシ血清 (Fetal Bovine Serum; FBS, Gibco)、抗菌薬 (ペニシリン; 100 U/mL、ストレプトマイシン; 100 μ g/mL, Wako) を加えた接着細胞用培地 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) を調整し、上記 HDF 細胞を培養した。10 cm Φ Dish (住友ベークライト) 内で 80 % コンフレントになるまで細胞を増殖させ、上清を除き PBS (Phosphate Buffered Saline) にて洗浄後、細胞剥離剤 (TrypLE Express,

Gibco) にて細胞を剥がした。剥離した細胞浮遊溶液に FBS 含有 DMEM 培地を加え、等量に分けた。2 本の細胞浮遊溶液を遠心し、実験用細胞を準備した。また、健常人口腔内上皮細胞をプラスチックスプーンで回収後、細胞浮遊液を遠心・沈澱させ、食塩法の細胞として準備した。

ゲノム DNA の簡易抽出法 (食塩法)

上記方法で回収した細胞塊に、10% NaCl 溶液を 1 mL 加え再浮遊させ、中性洗剤 (ママレモン, LION) 1 滴とプロテオフ (メニコン) 1 滴を加えた。混在している DNA 分解酵素を消化するため、タンパク質分解酵素を含むプロテオフを加える。十分攪拌後、55°C に設定したヒートブロック上にて 10 分間加温した。細胞塊が十分に溶解した後、室温に 10 分間静置・時々混和した。細胞溶解溶液に冷 100 % エタノール 2 mL を重層し、ゆっくり混和して糸状のゲノム DNA を抽出した。糸状 DNA を冷 70 % エタノール内で 3 回リンス (細胞夾雑物の除去) させた後、TE (Tris-EDTA, pH7.5) 溶液 100 μ L 内に移し、4°C 一晩静置させ溶解させた。

DNA 精製キット (カラム法)

上記細胞塊に対し、著者がよく使用している DNA 精製キット (NucleoSpin DNA RapidLyse, マッハライ・ナーゲル社) を用いてゲノム DNA を精製した。操作は、本製品のマニュアルに従った。

アガロースゲル電気泳動・制限酵素消化

細胞より抽出したゲノム DNA に対して、Agarose type II (SIGMA) 0.4 g を 1xTAE 溶液 100 mL に移し、電子レンジにて加温溶解し、アガロースゲル電気泳動装置 i-MyRun II (コスモバイオ) を用いて 30 V、15 時間電気泳動を行った。制限酵素 (EcoRI, Invitrogen) 消化は、ゲノム DNA (10 ng) に対して EcoRI (20 U) を 37°C、20 時間反応させ、上記 Agarose Type II を終濃度 0.7% となるようにアガロースゲルを調整し、100 V、30 分間電気泳動を行った。

吸光度測定

溶解したゲノム DNA 溶液を TE 溶液にて 20 倍希釈し、レシオビーム分光光度計 U-5100

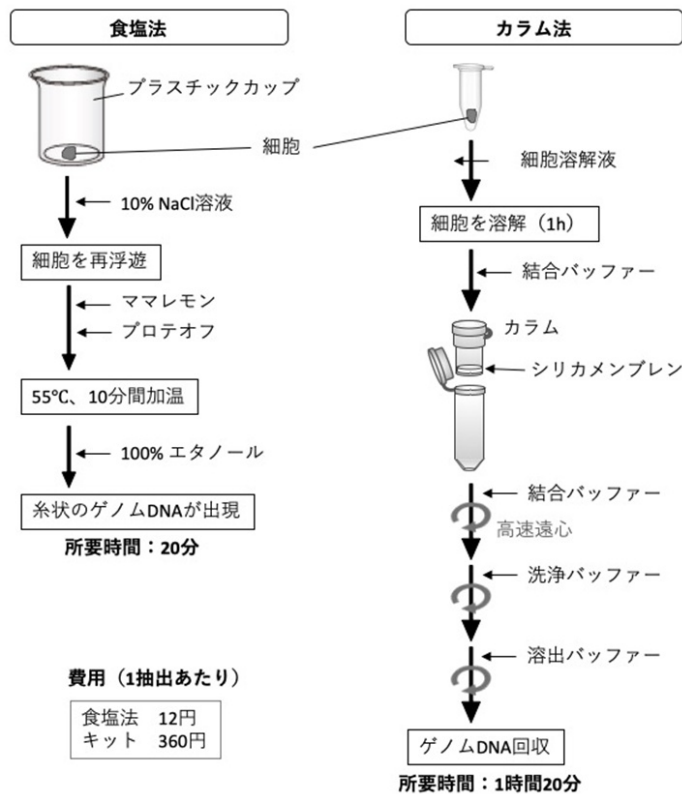


Fig. 1a ゲノム DNA の抽出 (食塩法とカラム法)

食塩法とカラム法の操作ステップ概要を示す。食塩法では、細胞を 10% NaCl 溶液に浮遊させ、ママレモン・プロテオフにて細胞を 55°C にて溶解させた後、100% エタノールを加えることで、ゲノム DNA が析出した。カラム法では、各専用試薬とカラム、高速遠心等の多段階操作を必要とする。食塩法とカラム法の費用と所要時間は、図中に示す。

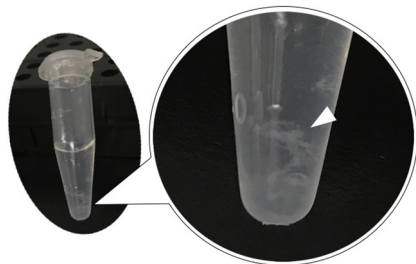


Fig. 1b 糸状のゲノム DNA

塩とエタノールを用いた食塩法により、糸状に凝集したゲノム DNA を示す。

(日立ハイテクサイエンス) にて 260nm と 280nm の吸光度 (Optical Density: OD) を測定した。

Qubit 測定

溶解したゲノム DNA 溶液を、Qubit アッセイ (Thermo Fisher Scientific) の dsDNA BR アッセイキットにて濃度測定を行った。操作は、本製品のマニュアルに従った。

ヒストグラムによる DNA 断片量と移動度の確認

制限酵素 EcoRI にて消化したゲノム DNA 断片を、上記 0.7% アガロースゲル電気泳

動を行った後、ゲル写真撮影装置 (FAS-IV、NIPPON Genetics) にて泳動画像を撮影し、Image J (画像における特定領域の輝度を数値化する画像解析ソフトウェア) にて DNA 断片量 (白色輝度: White value) とウェルからの距離 (移動度: Mobility of DNA fragments) を解析した。移動度と白色輝度のデータをもとに、表計算ソフトウェアである Microsoft Excel (Microsoft) にて各サンプルにおける泳動画像のヒストグラムを作成した。X 軸、Y 軸は、Image J にて設定された DNA 断片の移動度と白色輝度の数値であり、それぞれ数値が小さいほど移動度が低く (分子量が大きく)、輝度が低い (DNA 量が少ない) こととなる。

結果

食塩法によるゲノム DNA の抽出

本法とカラム法による抽出操作概要を、Fig. 1a に示す。中性洗剤により細胞塊を溶解させたところ、10% NaCl 溶液が時間経過とともに白濁した。線維芽細胞と口腔内上皮細胞ともに核内に内包されているゲノム DNA が、塩存在下で 100% エタノールを加えたところで凝集し、糸状の DNA が析出した (Fig. 1b)。チップで DNA を回収し、DNA 塊を完全にドライアップさせる前に TE 溶液を加えた。1 回の抽出に、食塩法では 12 円、使用したキットでは 360 円の費用がかかった。またゲノム DNA を抽出するまでの所要時間は、食塩法では約 20 分、カラム法では 1 時間 20 分であった (Fig. 1a)。

ゲノム DNA の品質確認

本食塩法とカラム法により抽出・精製したゲノム DNA を、0.4% アガロースゲル電気泳動した画像を Fig. 2a に示す。[左図] いずれの方法においてもゲノム DNA は巨大分子のため、ゲル内での移動度は低く、ウェルからの移動は僅かであった。マーカーレーンには、ラムダファージのゲノム DNA (48,502 bp) と Hind III 消化したラムダファージの DNA 断片を泳動した。各ゲノム DNA は、食塩法においては 48,502 bp のバンドより上部に位置しており、カラム法

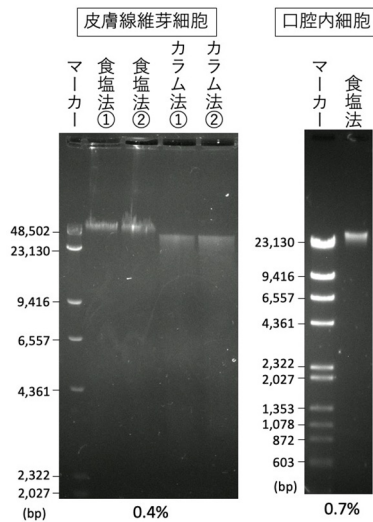


Fig. 2a ゲノム DNA の電気泳動像
食塩法とキットにて抽出・精製したゲノム DNA を、0.4%アガロースゲルを用いて低電圧/長時間電気泳動を行なった。DNA の移動度は食塩法の方が低く、カラム法に比べ長い DNA が得られた(左図)。また口腔内細胞を用いても、同様な品質のゲノム DNA を抽出することができた(右図)。

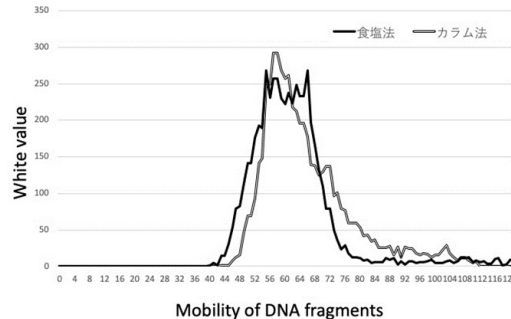


Fig. 2b ゲノム DNA のヒストグラム
アガロースゲル電気泳動にて確認されたゲノム DNA バンドのヒストグラムを示す。X 軸と Y 軸は、それぞれウェルからの距離(移動度)と DNA 量(白色輝度)を示す。横軸では、数値が大きいほど DNA のサイズは小さく、縦軸では、数値が大きいほど DNA 量が多い。

においては 48,502 bp より下部に位置していた。[右図] 本食塩法により抽出した口腔内上皮細胞由来ゲノム DNA の 0.7%アガロースゲル電気泳動像を示す。線維芽細胞と同質のゲノム DNA が抽出された。また、皮膚線維芽細胞を用いた 0.4%アガロースゲル電気泳動像における食塩法①とカラム法②のゲノム DNA バンドのヒストグラムを Fig. 2b に示す。

ゲノム DNA の断片化

食塩法とカラム法で抽出したゲノム DNA を、制限酵素 EcoRI にて消化した画像を Fig. 3a に示す。EcoRI 消化により生じる DNA 断片の長さはさまざまであり、電気泳動を行うと図のように長いスメア状の帯状バンドが生じる。食塩法でもカラム法でもスメア状バンドが確認されるが、目視で確認してもカラム法の方がより小さな断片が生じている。また、EcoRI 消化したゲノム DNA 断片のヒストグラムでは、全体的に食塩法よりもカラム法で精製したゲノム DNA 断片全体が右側にシフトしており、カラム法による精製の方がより断片化されていることが確認できた (Fig. 3b)。

ゲノム DNA の濃度測定

各抽出法で得られたゲノム DNA 溶液を用い、吸光度と Qubit による測定を行った (Table 1)。吸光度測定で抽出されたゲノム DNA 量は、食塩法では計 74 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (平均: 38.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、カラム法では計 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (平均: 37.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) であった。Qubit アッセイにおいて抽出されたゲノム DNA 量は、食塩法では計 22.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (平均: 11.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、カラム法では計 131 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (平均: 6.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) であった。

考察

がんゲノム医療に代表される遺伝学的検査や体細胞遺伝子検査などの遺伝子関連検査を行うにあたり、患者検体からのゲノム DNA の抽出・精製は必要不可欠なステップである。一般的なキットの抽出工程は、①細胞溶解バッファーにて、細胞からゲノム DNA を溶出させる、②次工程のカラムに DNA を結合させるため、結合バッファーを加える、③DNA 結合能をもつシリカ

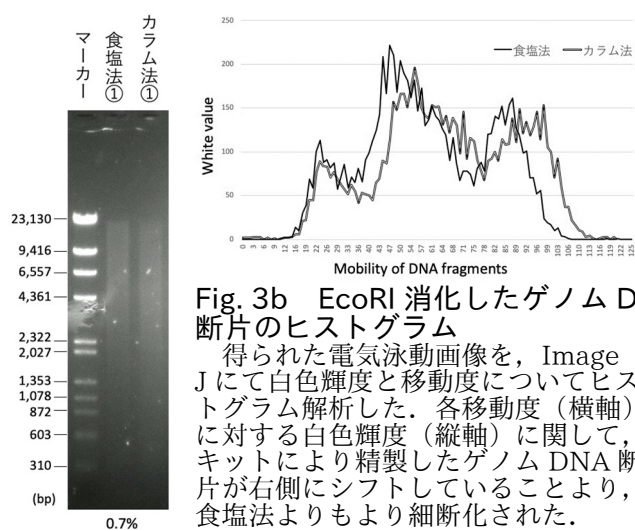


Fig. 3b EcoRI 消化したゲノム DNA 断片のヒストグラム

得られた電気泳動画像を、Image Jにて白色輝度と移動度についてヒストグラム解析した。各移動度(横軸)に対する白色輝度(縦軸)に関して、キットにより精製したゲノム DNA 断片が右側にシフトしていることより、食塩法よりもより細断化された。

Fig. 3a ゲノム DNA の電気泳動(制限酵素消化)
食塩法とキットにて抽出・精製したゲノム DNA を EcoRI にて制限酵素消化し電気泳動を行なった。食塩法に比べキットで精製した DNA の方が、より断片化された。

Table 1 ゲノム DNA の濃度測定

OD測定				
	260 nm	280 nm	260/280	DNA濃度
食塩法①	0.044	0.015	2.2	44 µg/ mL
食塩法②	0.030	0.009	3.3	30 µg/ mL
カラム法①	0.042	0.014	3.0	42 µg/ mL
カラム法②	0.033	0.013	2.5	33 µg/ mL
x20希釈測定				
Qubit測定				
食塩法①	9.2 µg/ mL			
食塩法②	12.8 µg/ mL			
カラム法①	5.7 µg/ mL			
カラム法②	7.4 µg/ mL			

OD 測定においては、食塩法とカラム法ではほぼ同等の DNA 濃度 (収量) が確認された。これに対し、dsDNA を特異的に検出する Qubit 測定においては、カラム法 (計 13.1 µg/mL)、食塩法 (計 22.0 µg/mL) あり、食塩法の方が 1.7 倍量の収量が確認された。

メンブレン (カラム) に検体を加える、④洗淨バッファーにて、カラム内の細胞夾雑物を除く、⑤溶出バッファーにて、シリカメンブレンに結合している DNA を溶出させる、という複数の操作が必要である。このようにキットでは、各工程に専用の試薬を用いる他、高速遠心機も準備しなくてはならない。本研究では、専用試薬を用いるゲノム DNA 精製キットと市販品で行う食塩法により抽出したゲノム DNA の品質比較解析を行なった。細胞から DNA を抽出するのに重要なポイントは、細胞を溶解することと DNA を回収することとである。Nasiri らは、細胞を溶解する方法として市販の界面活性作用のある洗剤が利用できることを報告している。食塩法で使用したマレモン中の界面活性剤 (直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム・直鎖アルキルベンゼンスルホン酸・アルキルエーテル硫酸エステルナトリウムなど) により細胞溶解が可能である。高濃度の食塩とエタノールにより DNA 同士が凝集することで回収が可能となっている (6)。プロテオフには蛋白質分解酵素が含まれており、溶液中にコンタミしている DNA 分解酵素やヒストンタンパク質を分解させるために加えている。分子生物学的に良質なゲノム DNA

とは、核内に保存されている状態に近い、殆ど分解されていない DNA 分子であればより良質な検体であり、一般的な電気泳動や制限酵素消化等により、容易に確認することができる。また食塩法における 1 回の抽出費用は、各製品の価格と使用量から算出して、カラム法の 30 分の 1 程度であった。

得られたゲノム DNA をアガロースゲル電気泳動で品質確認したところ、Fig. 2a の電気泳動画像より、食塩法の方がよりインタクトな状態で回収でき、カラム法では DNA の分解が認められた。食塩法とカラム法で抽出したゲノム DNA バンドの移動度の差は、最左レーンのサイズマーカーを参照してもサイズに差があり、食塩法で抽出したゲノム DNA の方が大きいサイズであることが示唆された。またカラム法で精製したバンドの下方に、スメア状のバンドが薄く带状に認められ、移動度 (DNA サイズ) と白色輝度 (DNA 量) によるヒストグラム解析 (Fig. 2b) を行った。食塩法に比べカラム法では、メジャーバンドの下方に認められる带状のスメアバンドが、移動度 70 以降のなだらかな下降曲線としてプロットされた。これは、カラム (シリカメンブレン) は微細な網目状構造をしており、高速遠心操作で糸状の長いゲノム DNA がカラムを通過する際、物理的な力が加わり切断されることにより生じたものと推測される。また得られたゲノム DNA は、非常に長い物質であるため溶解する際には、沈澱した DNA 塊を完全にドライアップさせる前に TE 溶液を加える方がより溶解しやすい。さらに高濃度のゲノム DNA は、一晩冷蔵静置では完全に均質溶解することはないので、1~7 日間かけて溶解する方が好ましい。

ゲノム DNA を制限酵素で消化して生じたスメア状のバンドをヒストグラムにて解析したところ、カラム法の方がより分解されていることが判明した (Fig. 3a と b)。EcoRI は、5' -GAATTC-3' の 6 塩基のパリンドローム配列を認識し、G と A の間を 5' 突出末端型に切断する制限酵素である。ヒトゲノムの中に EcoRI の切断箇所が生じる確率は、 $4^6=4,096$ 箇所につき 1 箇所

出現する確率であり、30 億文字あるゲノム DNA 内に約 700 万箇所の切断点を持つことより、スメア状のバンドが生じることになる。これより、カラムにて細断化されたゲノム DNA が、制限酵素消化によりさらに細かい DNA 断片が生じたものと考えられる。

ゲノム DNA の濃度測定において、同じサンプルの OD 測定と Qubit 測定を行ったところ、OD 測定値の方が 3.5~5.7 倍高い DNA 濃度となった (Table 1)。OD 測定は、核酸が 260 nm の波長を吸収する性質を利用した測定方法ではあるが、DNA と同時に RNA も測定してしまうほか、溶液中の夾雑物やバッファー中のイオン強度、pH などにも大きく影響されるため、真値を反映しているとは言い難い (7-13)。分子生物学実験マニュアルである Molecular Cloning (Cold Spring Harbor Laboratory) でも、核酸の量が少ない場合や夾雑物が多い場合は、核酸染色剤エチジウムブロマイドを用いた蛍光色素による定量を勧めている。一方 Qubit アッセイは、二本鎖 DNA に特異的に結合する蛍光色素を用いて DNA を染色し、蛍光光度計にて測定するため、非常に正確な DNA の濃度測定が可能になっている。これよりゲノム DNA の濃度は、Qubit アッセイによるものを真値とし、本研究においてはカラム法に比べ食塩法の方が 1.7 倍の収量であった。

現在、臨床検査で行われているゲノム DNA の抽出は、大多数が市販のキットを用いている。DNA の抽出には、シリカを用いたカラム法・ビーズ法やアルカリ溶液を用いた抽出法、ジルコニアビーズによるビーズ破碎法など、様々な簡易 DNA 抽出キットが販売されている (14-16)。しかし、いずれも専用の特種な素材を使用したり、危険有害性溶液を用いたり、専用の装置等が必要である。これに対し本食塩法は、生活汎用品である中性洗剤や調理用食塩などで細胞溶解や DNA を凝集 (回収) することができ、キットと同等の品質をもつゲノム DNA を得ることができる。また、培養液よりも夾雑物が多く含まれる口腔内から採取した細胞においても、同様な性能結

果を確認できた (Fig. 2a)。また、本食塩法で使用する試薬は生活汎用品で低価格であるため、ゲノム DNA 抽出コストの削減が可能である。同時に多くの検体を扱うことは難しいが、教育分野や試薬・キットを消費してしまったなどの緊急時において活用できる手技と考える。

謝辞

本研究は、令和 2 年度国際医療福祉大学学内研究費の交付により研究を遂行することができました。ここに感謝の意を申し上げます。

文献

- 1) Eva B, Allison P, Federica F, et al.; An estimation of the number of cells in the human body. *Annals Human Biology*. 2013.40:463-471.
- 2) Berger MF, Mardis ER.; The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nature Review Clinical Oncology*. 2018.15:353-365.
- 3) Tsimberidou AM, Fountzilas E, Nikanjam M, et al.; Review of precision cancer medicine, Evolution of the treatment paradigm. *Cancer Treatment Review*. 2020.86:102019, doi 10.1016/j.ctrv.20320.102019.
- 4) Nasiri H, Forouzandeh M, Rasaei MJ, Rahbarizadeh F.; Modified salting-out method: high-yield, high-quality genomic DNA extraction from whole blood using laundry detergent. *J Clin Lab Anal*. 2005.19:229-232. doi: 10.1002/jcla.20083.
- 5) Aljanabi SM, Martinez I.; Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res*. 1997.25:4692-4693. doi: 10.1093/nar/25.22.4692.
- 6) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF.; A simple salting out procedure for

- extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988.16, 1215-1215.
- 7) 柴山祥枝。核酸 (DNA・RNA) の定量法 ; 吸光分析法と蛍光分析法を中心に。日本分析化学会ぶんせき 2018, (7), p. 268-274.
- 8) Okamoto T, Okabe S.; Ultraviolet absorbance at 260 and 280 nm in RNA measurement is dependent on measurement solution. *Int J Mol Med.* 2000. 5, 657-659. doi: 10.3892/ijmm.5.6.657.
- 9) Glasel JA.; Validity of Nucleic Acid Purities Monitored by A260/A280 Absorbance Ratios. *Biotechniques.* 1995. 18, 62-63.
- 10) Teare JM, Islam R, Flanagan R, et al.; Measurement of nucleic acid concentrations using the DNA Quant and the Gene Quant. *Biotechniques,* 1997. 22,1170-1174.
- 11) Wilfinger WW, Mackey K, Chomczynski P.; Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *Biotechniques.* 1997. 22, 474-481.
- 12) Manchester KL.; Use of UV methods for measurement of protein and nucleic acid concentrations. *Biotechniques.* 1996. 20, 968-970.
- 13) Tsanev R, Markov GG.; Substances interfering with spectrophotometric estimation of nucleic acids and their elimination by the two-wavelength method. *Biochimica et biophysica acta.* 1960. 42, 442-452.
- 14) Wang TY, Wang L, Zhang JH, Dong WH.; *Genet Mol Res.* 2011. 10, 519-525. A simplified universal genomic DNA extraction protocol suitable for PCR
- 15) Wei S, Levy B, Hoffman N, et al.; A rapid and simple bead-bashing-based method for genomic DNA extraction from mammalian tissue. *Biotechniques,* 2020. 68,240-244.
- 16) L Rudbeck, J Dissing.; Rapid, simple alkaline extraction of human genomic DNA from whole blood, buccal epithelial cells, semen and forensic stains for PCR. *Biotechniques.* 1998. 25,588-590, 592.

A simple method for the extraction and quality evaluation of genomic DNA

Yoshitaka YAMAGUCHI, Tatsuki FUJII, Ren NAKAMURA, Yuki IWABUCHI,
Yudai WATANABE, Nobuyoshi IITSUKA, Koichi YAMAGUCHI, Norihiko ITO,
Hironori KATAYAMA

Department of Medical Technology and Sciences, School of Health Sciences at Narita, International University of Health and Welfare

Department of Medical Laboratory Science, Graduate School of Health and Welfare Sciences, International University of Health and Welfare

Institute of Medical Genomics, International University of Health and Welfare

Laboratory of Clinical Omics Research, Department of Applied Genomics, Kazusa DNA Research Institute

Department of Clinical Laboratory, Narita Hospital, International University of Health and Welfare

Department of Central Clinical Laboratory, Katori Omigawa Medical Center

Summary

In recent years, gene mutations (pathologic variant) have become a tool for diagnosing some diseases, even in fields such as pathology and hematology, and accordingly disease related-gene testing (genetic testing and somatic mutation test) has become an indispensable diagnostic method. In cancer genome medicine, genomic DNA extracted from patient's specimens are tested for them, making the extraction/purification of genomic DNA an indispensable technique. Thus, in this study, we established a simple and inexpensive method (salt method) for extracting genomic DNA, and compare its quality with that of a commercially available DNA extraction kit with multi-step, silica adsorption column and special reagents. While the commercial kits need high-speed centrifuge and special column and reagents for extraction, the salt method does not require those, and DNA can be extract using neutral detergent and cooking salt.

Compared with the commercial DNA extraction kit, the yield of the genomic DNA obtained by our simple method was 1.7-fold higher. And more, examining the genomic DNA with electrophoresis and restriction enzyme digestion showed that the DNA extracted by our method is comparably intact. And, it is also inexpensive in terms of the cost. Although it is difficult to handle a large number of samples at the same time, the reagents used in our method are commonly used in daily life and easy to obtain, making this technique useful in the education and unexpected situations with consumed reagent and kits.

Keywords: Genetic Testing, Gnomic DNA, Simple Extraction Method