

DNAdvance 追加プロトコル 口腔スワブからの DNA 抽出



本追加プロトコルは簡易版です。使用前には、正式な製品マニュアルと Supplemental Protocol (英文) を必ずご一読ください。

口腔スワブから DNA を抽出します。

Material Supplied by the User

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルプレート

例: Thermo Fisher Scientific, AB-1127

プレート用のシール

例: Thermo Fisher Scientific, AB-0662

V&P Scientific 7 Bar Magnet for 96-Well Plate, 771MWZM-1ALT

スワブ

例: Puritan Polyester tipped applicators, 25-806-2PD

例: Copan FLOQSwab, 50E011E01

試薬

70%エタノール (ヌクレアーゼフリー水で用時調製)

ヌクレアーゼフリー水

Purification Procedure

1. 細胞溶解

- a. Proteinase K 40 mg/mL 溶液を調製します。

Proteinase K のボトルに、PK Buffer を 384 prep の場合は 3.25 mL、9,600 prep の場合は 81 mL 加えます。調製後の溶液は、-20°Cで保存します。

- b. 以下の通り溶解用マスターミックスを調製します。

試薬	容量 (μL/prep)
Lysis LBH	441
Proteinase K (40 mg/ml) 溶液	16
ヌクレアーゼフリー水	343

- c. 反応プレートに口腔スワブのヘッド部分 1~2 個を入れ、溶解用マスターミックス 800 μL を加えます。
- d. 反応プレートをシールキャップで封をし、60°Cで 15 分間反応します。
- e. 必要があれば、プレートシールを外す前に反応プレートを軽く遠心して、水滴などを落とします。

2. 結合

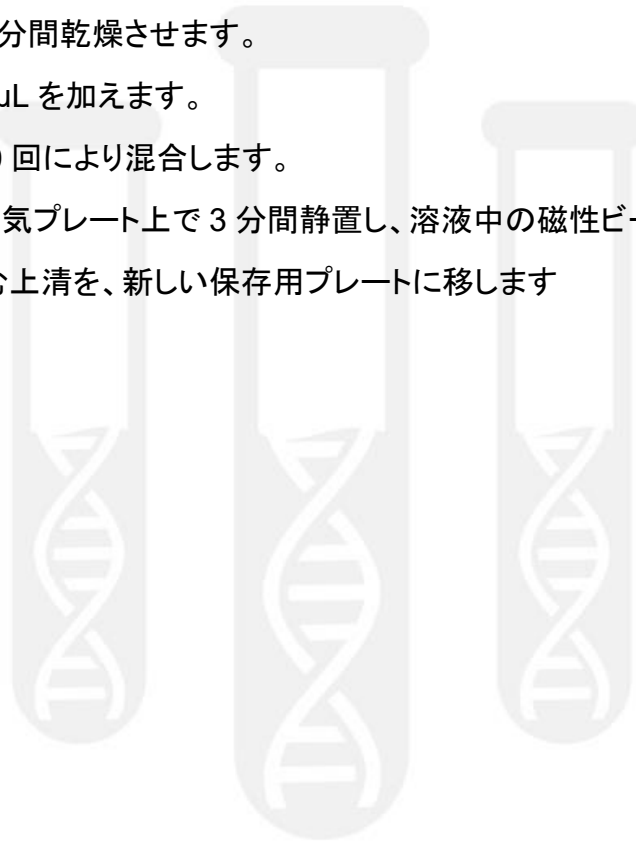
- a. 細胞溶解物 ~500 μL を、新しい反応プレートに移します。スワブのヘッド部分は残します。
- b. Pre-Bind PBBA 150 μL を加えます。
- c. ピペティング 10 回により混合します。
- d. Bind BBE のボトルをボルテックスし、磁性ビーズを完全に懸濁します。
- e. Bind BBE 255 μL を加えます。
- f. ピペティング 10 回により混合します。
- g. 室温で 5 分間静置します。
- h. 反応プレートを磁気プレート上で 4 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- i. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。
- j. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

3. 70%エタノール洗浄

- a. 70%エタノール 340 μ L を加えます。
- b. ピペティング 10 回により混合します。
- c. 反応プレートが磁気プレート上で 3 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- d. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。
- e. 3.a~3.d のステップを 2 回繰り返し行い、合計 3 回の 70%エタノール洗浄を行います。
- f. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

4. 溶出

- a. 磁性ビーズを~1 分間乾燥させます。
- b. Elution EBA 60 μ L を加えます。
- c. ピペティング 10 回により混合します。
- d. 反応プレートを磁気プレート上で 3 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- e. 溶出 DNA を含む上清を、新しい保存用プレートに移します



Example Data

Puritan ポリエステルスワブ 2 個からの DNA 収量は、およそ 20~50 ng/μL の濃度範囲で、1 μg を超えていました。Copan FLOQSwab スワブ 1 個からの DNA 収量は、およそ 10~25 ng/μL の濃度範囲で、450 ng を超えていました。また、タンパク質の混入はほとんど見られず、A260/A280 値は 1.6~1.7 でした。

Sample	Conc. (ng/μL)	260/280	total ng
Copan Donor 1	7.855	1.6	471.3
Copan Donor 2	24.91	1.6	1494.6
Copan Donor 3	18.36	1.7	1101.6
Puritan Donor 1	17.99	1.7	1079.4
Puritan Donor 2	52.46	1.6	3147.6
Puritan Donor 3	31.23	1.6	1873.8

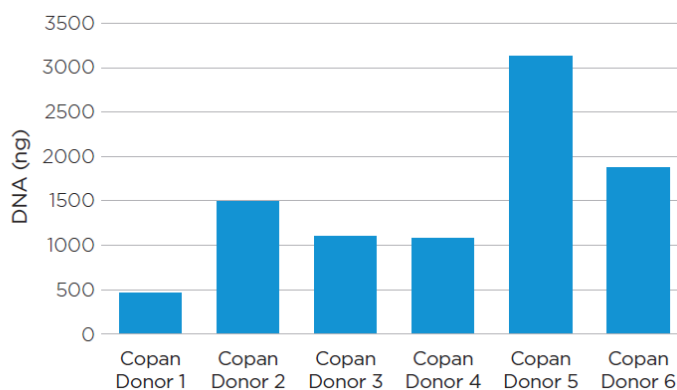


Table 1. 各サンプルからの DNA 収量。Copan FLOQSwab スワブ、または Puritan Polyester tipped applicators スワブを使用。

Figure 1. Copan FLOQSwab スワブ 1 個、または Puritan ポリエステルスワブ 2 個からの DNA 収量。

210217_SP-JP_DNAdvance_Swab

ベックマン・コールター株式会社

本 社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 ☎ 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 ☎ 03-5530-2460
 ✉ bckkcas@beckman.com URL <http://www.beckmancoulter.co.jp>

