

FormaPure XL DNA 追加プロトコル

ホルマリン固定・パラフィン非包埋サンプルからの 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。

ホルマリン固定・パラフィン非包埋組織から DNA を抽出します。

Material Supplied by the User

1.5 mL マイクロチューブ

例: Beckman Coulter, 357448

Beckman Coulter SPRIStand 6 Position Tube Magnet, A29182

1.2 mL 96 ウェルプレート

例: ThermoFisher Scientific, AB1127

Beckman Coulter SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate, A32782

試薬

80%エタノール(ヌクレアーゼフリー水で用時調製)

DNase I (RNase フリー; 2 U/ μ L)、DNase I Buffer

ヌクレアーゼフリー水

1× PBS

Purification Procedure

1. ホモジナイゼーション／溶解

- a. 固定組織を 1.5 mL マイクロチューブに移します。固定組織を 1× PBS 1 mL で 30 秒間洗浄します。この洗浄を合計 2 回行います。
- b. 100%エタノールから、95%、90%、80%、70%、50%エタノールの順番で組織を水和し、最後に水で水和します。
- c. 固定組織 30 mg を 1.5 mL マイクロチューブまたは 96 ウェルプレートに移します。
- d. Lysis LBD 200 μ L と Proteinase K 30 μ L を加えます。
- e. 組織のホモジナイズ: ティッシュライザー (スチールボール) またはハンドホモジナイザーを使用してください。ホモジナイズ後、ティッシュライザーを使用している場合はスチールボールを取り除きます。サンプル数が少ない場合は、ハンドホモジナイザーの使用も推奨されます。
- f. 12,000 rpm で 1 分間、遠心分離します。
- g. 上清を新しいチューブ/プレートに移します。
- h. 60°C でオーバーナイト反応します。

2. 脱クロスリンク

- a. 80°C で 60 分間静置します。
- b. 加熱器からサンプルを下ろします。

3. RNase A 処理

- a. RNase A 5 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. 室温で 5 分間静置します。

4. 結合

- a. Bind BBA 300 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. 室温で 5 分間静置します。
- d. サンプルを磁気上で 10 分間 (必要に応じてそれ以上) 静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- e. サンプルを磁気上に置いたままで、上清を除去します。

f. サンプルを磁気から下ろします。

5. 洗浄

a. Wash WBA 400 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. サンプルを磁気上で 10 分間 (必要に応じてそれ以上) 静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。

d. サンプルを磁気上に置いたままで、上清を除去します。

e. サンプルを磁気から下ろします。

6. エタノール洗浄

f. 80%エタノール 750 μ L を加えます。

g. ピペティング 10 回により混合します。

h. サンプルを磁気上で 10 分間 (必要に応じてそれ以上) 静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。

i. サンプルを磁気上に置いたままで、上清を除去します。

j. サンプルを磁気から下ろします。

k. 10 分間風乾します。

7. 溶出

a. ヌクレアーゼフリー水 40 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. 60°Cで 2 分間静置します。

d. サンプルを磁気上で 5 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、新しい保存用チューブ/プレートに移します

Example Data

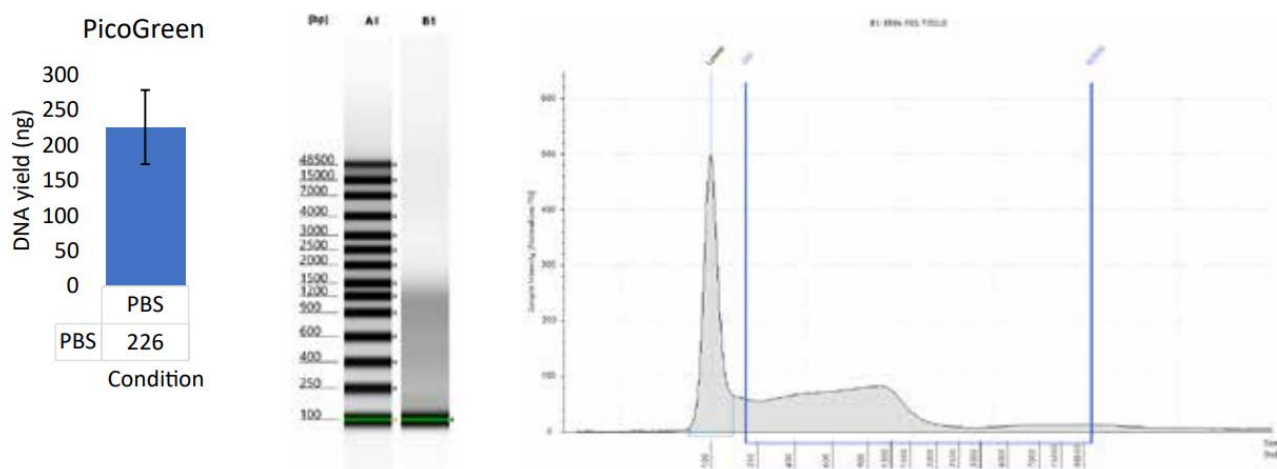


Figure. 本追加プロトコルを用いた、ホルマリン固定、パラフィン非包埋の脳組織サンプルからのDNA抽出収量と分解程度 (n=3)。左: DNA 収量は、Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA アッセイで測定しました。右: DNA の分解程度は、gDNA TapeStation で測定しました。

210216_SP-JP_FormaPureXLDNA_FFtissueDNA

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>

