

GenFind v3 追加プロトコル 全血 2 mL 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。

2 mL までの全血サンプルから、ゲノム DNA を抽出します。

Material Supplied by the User

10 mL 24 ウェルプレート

例: Axygen, P-DW-10ML-24-C-S

24 ウェルマグネットプレート

例: Alpaqua Magnum FLX®, A000440

試薬

100%エタノール

ヌクレアーゼフリー水

Wash WBC 溶液の調製

Wash WBC のボトルに 100%エタノールを、Wash WBC : 100%エタノール = 1 : 3 の割合で加え、混合します。調製後の溶液は、室温で保存します。

Purification Procedure

1. サンプル調製／細胞溶解

- a. 凍結サンプルを室温または 37°C で解凍します。
- b. 転倒混和を数回行います。
- c. 血液 2 mL を 10 mL 24 ウェルプレートに移します。
- d. Proteinase K 300 μ L を加えます。
- e. ピペティング 10 回により混合します。
- f. Lysis LBB 1.75 mL を加えます。
- g. ピペティング 10 回により混合します。
- h. 37°C で 40 分間反応します。

2. 結合

- a. Bind BBB のボトルをボルテックスし、磁性ビーズを完全に再懸濁します。
- b. Bind BBB 1.25 mL を加えます。
- c. ピペティング 10 回により混合します。
- d. 室温で 10 分間静置します。
- e. ピペティング 10 回により混合します。
- f. 室温で 10 分間静置します。
- g. 反応プレートを磁気プレート上で 15 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- h. 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。
- i. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

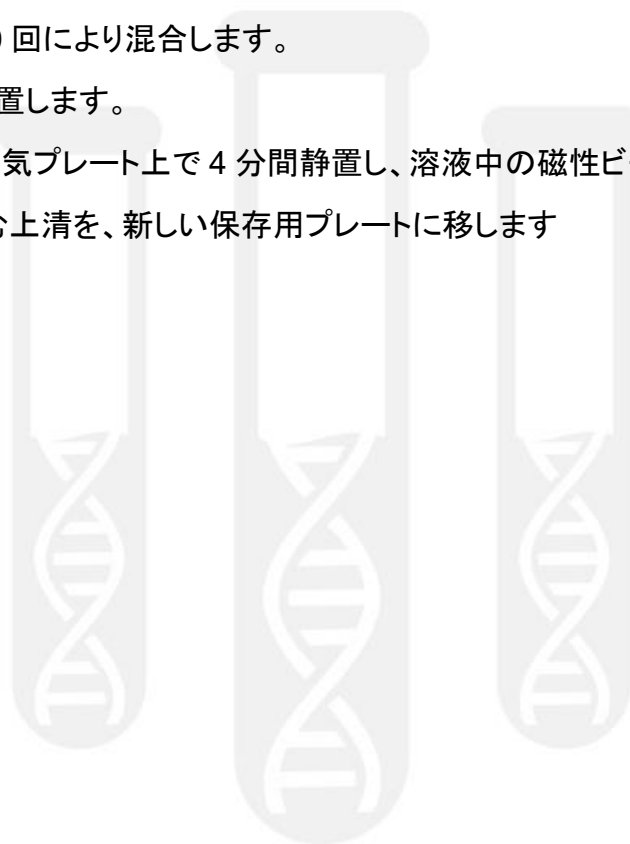
3. Wash WBB 洗浄

- a. Wash WBB 4 mL を加えます。
- b. ピペティング 10 回により混合します。
- c. 反応プレートを磁気プレート上で 10 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. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
- f. 3.a~3.e のステップを繰り返し行い、合計 2 回の Wash WBB 洗浄を行います。

4. Wash WBC 洗浄

- a. Wash WBC 溶液 5 mL 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 10 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. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
 - f. 4.a~4.e のステップを繰り返し行い、合計 2 回の Wash WBC 洗浄を行います。
 - g. 磁気プレート上で 3 分間風乾します。
- a. 溶出
- a. ヌクレアーゼフリー水 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. 室温で 5 分間静置します。
 - d. 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。
 - 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

EDTA、ヘパリン、クエン酸塩採血管保存の凍結全血 2 mL からのゲノム DNA を抽出しました。サンプルは健康な血液提供者 4 名から得ました。DNA 収量 (A) および純度 (B および C) は、NanoDrop (ThermoFisher Scientific) で測定しました。

平均 DNA 収量は、EDTA、ヘパリン、およびクエン酸塩採血管それぞれで、約 32 μ g、25 μ g および 23 μ g でした。提供者 1~3 では、A260/A280 は約 1.76、A260/A230 は 1.6 以上でした。提供者 4 では、A260/280 は 1.66、A260/A230 は 1.0~1.8 のレンジを示し、外れ値の可能性が



Figure 1. Genomic DNA was extracted from 2 mL frozen whole blood. Four different donors and three different blood collection tubes were used in the extraction demonstration. (A) DNA yield was measured by NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). (B and C) DNA purity was accessed by NanoDrop (Thermo Fisher Scientific).

210217_SP-JP_GenFindV3_Blood2mLDNA

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>

