

GenFind v3 追加プロトコル 培養細胞 200 万 cell 以下からの 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。

培養細胞 200 万 cell 以下から DNA を抽出します。

Material Supplied by the User

2 mL 96 ウェルプレート

例: Beckman Coulter, 609681

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

1.5 mL マイクロチューブ

試薬

100%エタノール

ヌクレアーゼフリー水

1× PBS

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. 細胞溶解

- a. 培養細胞ペレットに 1× PBS 200 μ L を加えます。
- b. ピペッティング 10 回により混合します。
- c. Lysis LBB 500 μ L を加えます。
- d. Proteinase K 30 μ L を加えます。
- e. ピペッティング 10 回により混合します。
- f. 37°C で 15 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 300 μ L を加え、混合します。
- c. 室温で 5 分間静置します。
- d. 反応プレートに磁性プレート上で 10 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- e. 反応プレートを磁性プレート上に置いたままで、上清を除去します。
- f. 反応プレートを磁性プレートから下ろします。

3. 洗浄

- a. Wash WBB 800 μ L を加えます。
- b. ピペッティング 10 回により混合します。
- c. 反応プレートを磁性プレート上で 10 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- d. 反応プレートを磁性プレート上に置いたままで、上清を除去します。
- e. 反応プレートを磁性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。
- g. Wash WBC 溶液 1.6 mL を加えます。
- h. ピペッティング 10 回により混合します。
- i. 反応プレートを磁性プレート上で 6 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- j. 反応プレートを磁性プレート上に置いたままで、上清を除去します。
- k. 反応プレートを磁性プレートから下ろします。
- l. 3.g~3.k 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。

4. 溶出

- a. ヌクレアーゼフリー水 40 μ L を加え、混合します。
- b. 室温で 2 分間静置します。
- c. 反応プレート を磁気プレート 上で 2 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
- d. 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

Jurkat 140 万 cell からの抽出したゲノム DNA のデータを示します。DNA の収量と純度は、NanoDrop (ThermoFisher Scientific) で測定しました (Table 1)。DNA の分解程度は、Agilent Genomic DNA Screen Tape で評価しました。DIN はすべて 8.4 以上で、分解程度が低い DNA が抽出できていることを示します (Figure 1)。

	Cell Number	Conc. (ng/μL)	Yield (μg)	A260/A280	A260/A230
Jurkat cells (Sample A)	1.4 x 10 ⁶	323.8	13.0	1.98	2.16
Jurkat cells (Sample B)	1.4 x 10 ⁶	319.9	12.8	1.97	2.15
Jurkat cells (Sample C)	1.4 x 10 ⁶	281.5	11.3	1.99	2.19
Average	1.4 x 10 ⁶	308.4	12.3	1.98	2.17

Table 1. Concentration and purity of DNA extracted from 1.4 million Jurkat cells. Total average DNA yield from 3 replicates was 12.3 μg. High DNA purity meets requirements for many downstream applications.

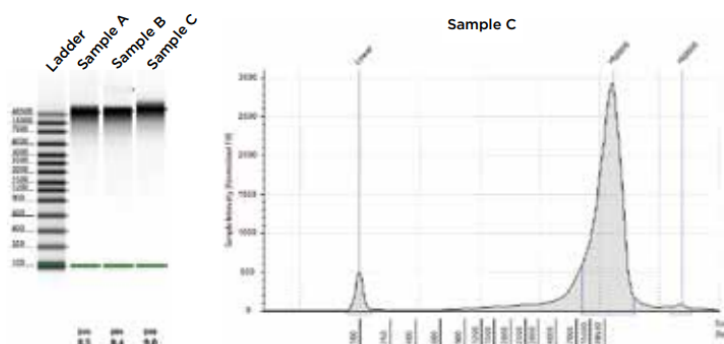


Figure 1. An Agilent Genomic DNA Screen Tape of DNA extracted from 1.4 million Jurkat cells. The gel indicates highly intact DNA predominately >48.5 kb with the DIN scores at the bottom. To the right of the gel is the electropherogram of Sample C.

210217_SP-JP_GenFindV3_BloodspotDNA

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>

