

## GenFind v3 追加プロトコル 洗口液からの 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。

洗口液(通常 10~30 mL)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

### 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

- a. 洗口液 10~30 mL を 3,000× g で 10 分間遠心分離します。
- b. 上清を除去します。

### 2. 細胞溶解

- a. Lysis LBB 500  $\mu$ L を加えます。
- b. Proteinase K 30  $\mu$ L を加えます。
- c. ピペティング 10 回により混合します。
- d. 2 mL 96 ウェルプレートに移します。
- e. 37°C で 10 分間反応します。

### 3. 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  $\mu$ 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。
- e. 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。
- f. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

### 4. 洗浄

- a. Wash WBB 800  $\mu$ 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. 4.a~4.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. ピペティング 10 回により混合します。
- i. 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。
- j. 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。
- k. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

l. 4.g~4.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。

## 5. 溶出

- a. ヌクレアーゼフリー水 40  $\mu$ 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

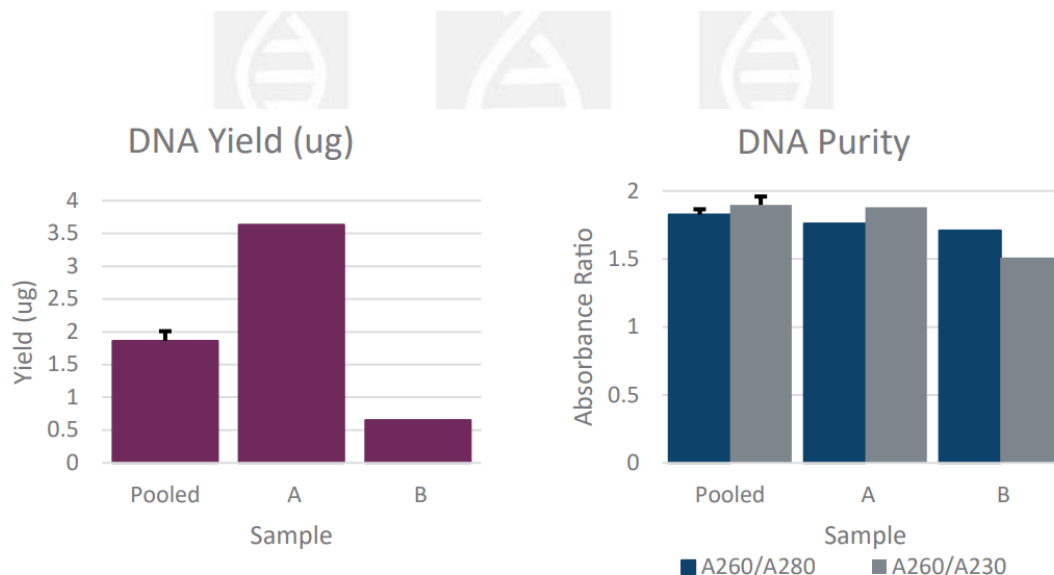


## Example Data

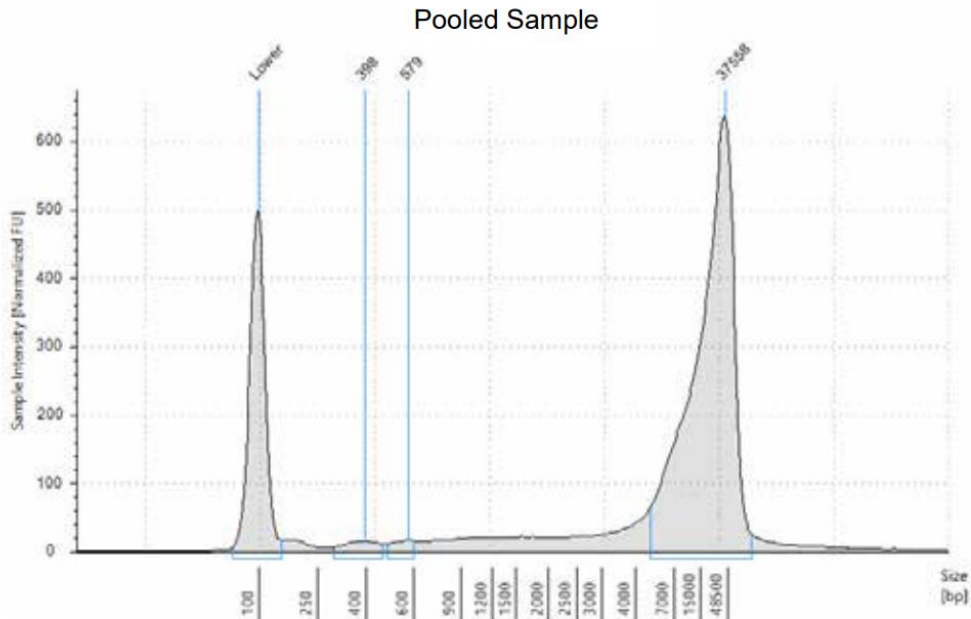
5人の供与者から、12.25%のアルコールを含む洗口液 15 mL を用いてサンプルを取得しました。3人由来のサンプルはサンプル固有のばらつきを抑えるために混合し、残り2人分については個別サンプルとして各々DNA抽出を行いました(混合サンプルについては、n=3)。NanoDrop (ThermoFisher Scientific) でDNA収量と純度を測定しました。混合サンプルの平均収率は1.8  $\mu\text{g}$  (標準偏差 0.14) でした (Table 1 and Figure 1)。純度はすべてのサンプルで、下流アプリケーションの使用に問題のない数値が得られました (Table 1 and Figure 1)。DNAの分解程度は、Agilent Genomic DNA Screen Tape で評価しました (Figure 2)。

Sample	Concentration (ng/ $\mu\text{L}$ )	Yield ( $\mu\text{g}$ )	260/280	260/230
pooled	41.3	1.7	1.8	1.8
pooled	48.8	2.0	1.8	2.0
pooled	49.5	2.0	1.9	1.9
a	90.8	3.6	1.8	1.9
b	16.3	0.7	1.7	1.5

**Table 1.** Concentration, yield and purity of DNA extracted from mouthwash samples. The pooled samples showed very little variation. The large variation seen in the other two samples could be due to biological variation.



**Figure 1.** (Right) The DNA yield of DNA extracted from mouth wash samples. (Left) The DNA purity of DNA extracted from mouth wash samples. The error bars in the pooled sample are the standard deviation of three technical replicates.



**Figure 2.** An Agilent Genomic DNA Screen Tape of DNA extracted from mouthwash. The electropherogram of one of the pooled samples is shown above. The DIN scores was 8.1.



210217\_SP-JP\_GenFindV3\_MouthwashDNA

## 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 🌐 <http://www.beckmancoulter.co.jp>

