

GenFind v3 追加プロトコル

PAXgene™ Blood DNA Tube 保存血液からの 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。

PAXgene™ Blood DNA Tube 保存血液から 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

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. PAXgene™ Blood DNA Tube を 10 回転倒混和します。
- b. 保存血液 200 μ L を 2 mL 96 ウェルプレートに移します。
- 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 10 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 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。
- 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。

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。
- 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. 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 200 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

4°Cで12日間保存したPAXgene™ Blood DNA Tube 保存血液からDNAを抽出しました。DNA濃度と純度は、NanoDrop (ThermoFisher Scientific) で測定しました。健康な供与者3人の血液を使用しました。供与者AとBのDNA収量はほぼ同じで平均3.4 µg、濃度もほぼ同じで平均34.3 ng/µLでしたが、供与者CのDNA収量は平均5.5 µg、55.6 ng/µLとA, Bのほぼ2倍でした。この収量の差は、供与者間の生物学的なばらつきに由来するものであり、DNA抽出の技術や試薬キットのばらつきによるものではない可能性が高いと考えられます。A260/280 と A260/230 によって測定されたDNA純度は、3人の供与者間で同様な結果が得られました。A260/280 は平均1.8、A260/230 は平均2.2でした。

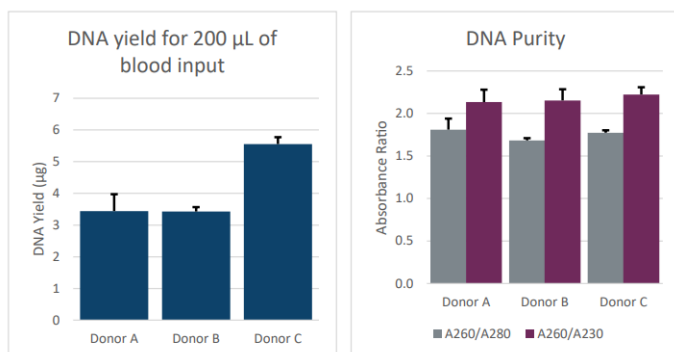


Figure. The average yield and purity from three technical replicates of three healthy donors as assessed using the NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Error bars are calculated by the standard deviation of three technical replicates.

210217_SP-JP_GenFindV3_PAXgeneDNA

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>