

GenFind v3 追加プロトコル 組織(凍結・新鮮)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。

組織(凍結・新鮮)から DNA を抽出します。

Material Supplied by the User

1.2 mL 96 ウェルプレート

例: ThermoFisher Scientific, AB1127

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. サンプル調製

- a. 組織 10 mg を 1.2 mL 96 ウェルプレートに移します。

2. 細胞溶解

- a. 破碎用のステンレスビーズを 1 つ加えます。
- b. Lysis LBB 100 μ L を加えます。
- c. ヌクレアーゼフリー水 100 μ L を加えます。
- d. 1,200 rpm で 30 分間ビーズ破碎します。
- e. 室温で 30 秒間静置します。
- f. 1,200 rpm で 30 分間ビーズ破碎します。
- g. 3,000 rpm で 3 分間遠心分離します。
- h. 上清 200 μ L を新しい 2 mL 96 ウェルプレートに移します。
- i. Lysis LBB 400 μ L を加えます。
- j. Proteinase K 30 μ L を加えます。
- k. ピペティング 10 回により混合します。
- l. 37°C で 30 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 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。
- 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。

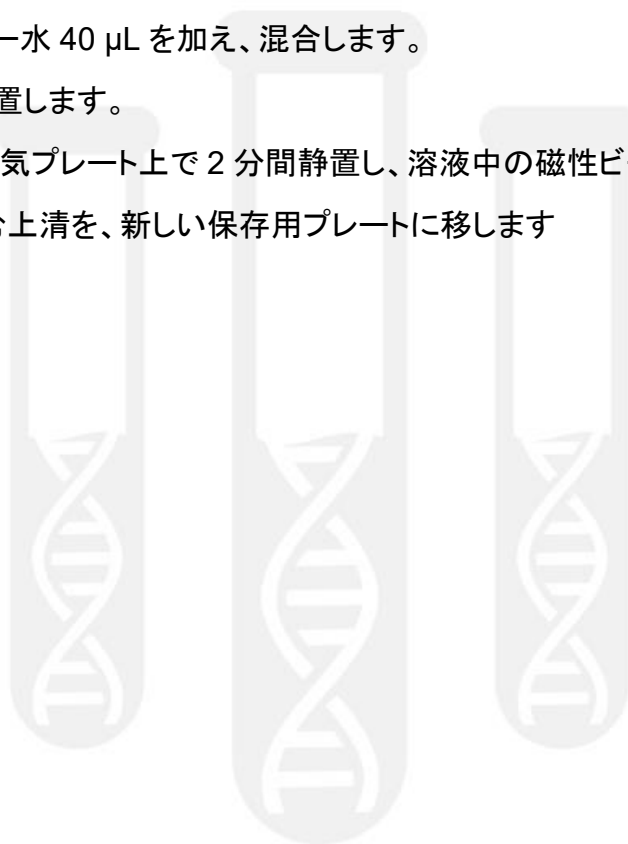
4. 洗浄

- a. Wash WBB 800 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. 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. 反応プレートが磁気プレート上で 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 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

マウス肺組織 16.6 mg から抽出した DNA 収量と純度を、NanoDrop (ThermoFisher Scientific) で測定しました (n=3; Table 1)。ゲノム 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 以上であり、DNA の分解程度が低いことを示しました (Figure 1)。

Sample	Conc. (ng/μL)	Yield (μg)	Yield/mg of tissue (μg)	260/280	260/230
A	220.0	8.8	0.53	1.92	2.13
B	186.4	7.5	0.45	1.90	1.94
C	146.7	5.9	0.35	1.92	2.02

Table 1. The concentration, yield, yield per milligram of tissue, and DNA purity of DNA extracted from mouse lung tissue

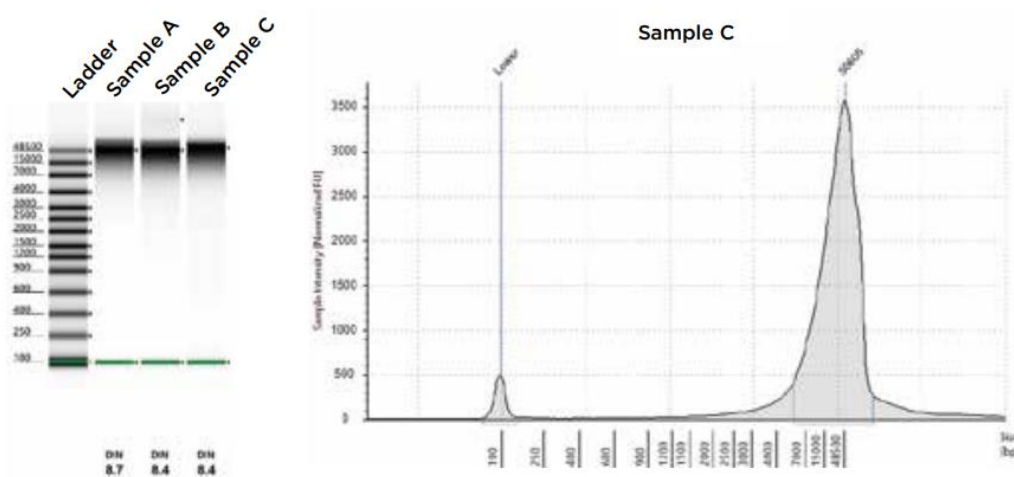


Figure 1. An Agilent Genomic DNA Screen Tape of DNA extracted from 16.6mg of mouse lung tissue. Right is the gel of all three samples and left is electropherogram of Sample A. The DIN scores are at the bottom of the gel.

210217_SP-JP_GenFindV3_TissueDNA

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>

