

GenFind v3 追加プロトコル: Zeesan@ Saliva DNA sample collection kit 保存だ液からの 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。

Zeesan@ Saliva DNA sample collection kit 保存だ液から 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

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. だ液回収キットの指示通りに、サンプルを回収します。
- b. サンプルは室温で保存します。
- c. サンプル 300 μ L を 2 mL 96 ウェルプレートに移します。
- d. Lysis LBB 700 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. Proteinase K 45 μ L を加えます。
- g. ピペッティング 10 回により混合します。
- h. 55°C で 60 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 450 μ L を加えます。
- c. ピペッティング 10 回により混合します。
- d. 室温で 5 分間静置します。
- e. 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。
- f. 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。
- g. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。

3. WBB 洗浄

- a. Wash WBB 1.2 mL 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。

4. WBC 洗浄

- a. Wash WBC 溶液 1.6 mL 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. 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。

5. 溶出

- a. ヌクレアーゼフリー水 150 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

3人の供与者から採取しただ液を、Zeesan@ Saliva DNA sample collection kit で保存した後にDNAを抽出しました。DNA収量はQuant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay (ThermoFisher Scientific) により測定され、だ液 300 μ L から平均 10.3 μ g のゲノム DNA が抽出されました (Figure 1A)。DNA 純度はNanoDrop (ThermoFisher Scientific) により測定され、260/280 は平均 1.9、260/230 は平均 2.0 以上でした (Figure 1B)。DNA の分解程度はAgilent gDNA ScreenTape Assay で測定され、DIN は平均 8.2、DNA ピークサイズは 55 kb 以上であり、だ液サンプルから抽出されたゲノム DNA は、高品質であることを示していました (Figure 1C and 1D)。

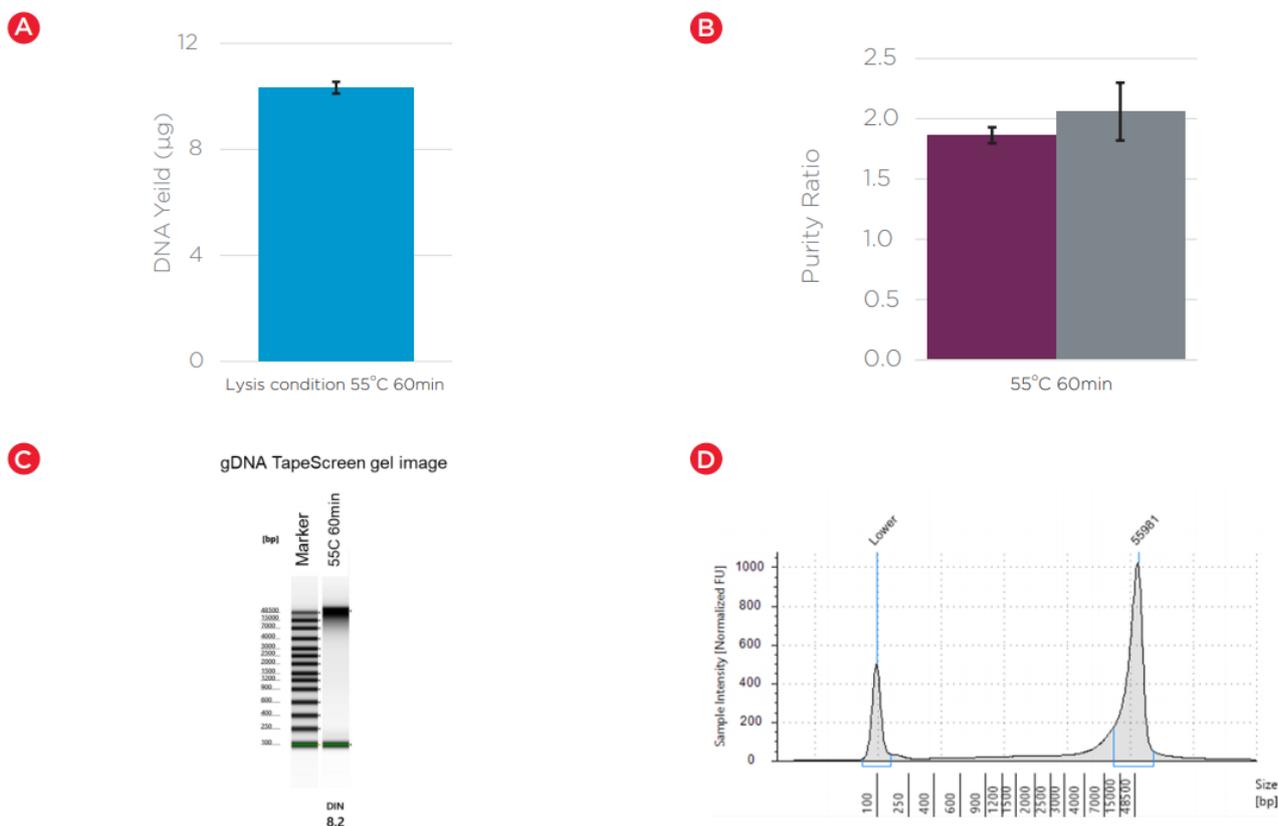


Figure 1. Genomic DNA extraction from 300 μ L saliva. DNA was isolated from 3 healthy donors. (A) DNA yield was measured by Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay (ThermoFisher). The error bar represents the standard deviation of three donor replicates. (B) Purity was accessed by NanoDrop (Thermo Fisher Scientific); the average 260/280 is about 1.9 and 260/230 is greater than 2.0. The error bar represents the standard deviation of three donor replicates. (C and D) DNA integrity was analyzed by using Agilent gDNA ScreenTape Assay.



210217_SP-JP_GenFindV3_ZeesanSalivaDNA

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>

