Apostle MiniMax™ cfDNA
クイックマニュアル

本クイックマニュアルは簡易版です。使用前には、正式なマニュアル（英文）を必ずご一読ください。

Introduction

Apostle MiniMax™ 技術により、セルフリーの血漿、血清、尿からの cfDNA (cell free DNA) 抽出に対応します。抽出した cfDNA は、PCR やシーケンスなどの幅広いアプリケーションで利用可能です。

保存方法

Magnetic Nanoparticles	室温保存	使用前に十分に再懸濁してください。
Proteinase K	室温保存	
Sample Lysis Buffer	室温暗所保存	沈殿があるときは、37℃で再溶解してください。
cfDNA Lysis/Binding Solution	室温暗所保存	沈殿があるときは、37℃で再溶解してください。
cfDNA Wash Solution	室温暗所保存	沈殿があるときは、37℃で再溶解してください。
cfDNA 2nd Wash Solution	室温保存	
cfDNA Elution Solution	室温保存	

本マニュアルの対応製品

C40604 Apostle MiniMax™ High Efficiency cfDNA Isolation Kit 1 mL × 10 Preps

C40603 Apostle MiniMax™ High Efficiency cfDNA Isolation Kit 1 mL × 50 Preps

C40605 Apostle MiniMax™ High Efficiency cfDNA Isolation Kit 5 mL × 50 Preps

C43459 Apostle MiniMax™ High Efficiency cfDNA Isolation Kit 4 mL × 384 Preps

Material Supplied by the User

反応チューブと磁気スタンド

15 mL コニカルチューブ

15 mL コニカルチューブに対応するマグネットスタンド

例：Bioneer MagListo™-15 Magnetic Separation Rack, TM-1020

1.5 mL マイクロチューブ

1.5 mL マイクロチューブに対応するマグネットスタンド

例：Beckman Coulter SPRIStand 6 Position Tube Magnet, A29182

試薬

100%エタノール

機器類

ボルテックス

シェーカー

37℃に対応するインキュベーター

1.5 mL チューブに対応する遠心機

Purification Procedure

A. サンプル溶解

1. 15 mL コニカルチューブに、下表の通りに Proteinase K と Sample Lysis Buffer を加えます。
   サンプルを入れる前に、Proteinase K と Sample Lysis Buffer を混合しないでください。

Proteinase K	40 µL	80 µL	160 µL	200 µL
Sample	1 mL	2 mL	4 mL	5 mL
Sample Lysis Buffer	100 µL	200 µL	400 µL	500 µL

2. ボルテックスにより軽く混合し、60℃で 20 分間反応します。
3. 反応後、室温に静置します。

B. cfDNA の磁性ナノ粒子への結合

4. 下表の通りに cfDNA Lysis/Binding Solution と Magnetic Nanoparticles（緑色のキャップ）を加えます。
   Magnetic Nanoparticles は、使用前に十分に再懸濁してください。

Initial sample volume	1 mL	2 mL	4 mL	5 mL
Lysis/Binding Solution	1.25 mL	2.5 mL	5.0 mL	6.25 mL
Magnetic Nanoparticles	15 µL	30 µL	60 µL	75 µL

5. ボルテックスまたは転倒混和 10 回により混合します。
   過度なボルテックスにより、泡を発生させないようにします。
6. シェーカー（振盪速度：1,200 から 2,200 rpm）で 10 分間振盪混和します。
7. 反応チューブを磁気スタンド上で 5 分間静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。
8. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を除去します。

C. cfDNA Wash Solution での洗浄

9. 反応チューブを磁気スタンド上から下ろし、cfDNA Wash Solution を 1 mL 加え、ボルテックス

で磁性ナノ粒子を再懸濁します。

10. 懸濁液を、新しい 1.5 mL マイクロチューブに移します。
もとの 15 mL コニカルチューブは一時保存します。
11. 反応チューブ（1.5 mL マイクロチューブ）を磁気スタンド上で 1 分間静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。
12. 反応チューブ（1.5 mL マイクロチューブ）を磁気スタンド上に置いたままで、**上清を用いて、一時保存しておいた 15 mL コニカルチューブ内を洗い、その懸濁液を 1.5 mL チューブに戻します。15 mL コニカルチューブは破棄します。**
13. 反応チューブ（1.5 mL マイクロチューブ）を磁気スタンド上で 2 分間または上清が透明になるまで静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。
14. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を除去します。
15. 反応チューブを磁気スタンド上から下ろし、cfDNA Wash Solution を 1 mL 加え、ボルテックスで 30 秒間再懸濁します。
16. 反応チューブを軽く遠心分離し、懸濁液を底部に落とします。
反応チューブを磁気スタンド上で 2 分間または上清が透明になるまで静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。
17. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を除去します。

D. cfDNA 2nd Wash Solution での洗浄

18. 予め cfDNA 2nd Wash Solution と 100%エタノールを 1:4 で混合しておきます。最終濃度は 20% cfDNA 2nd Wash Solution / 80%エタノールとなり、1 サンプルあたり 2 mL 使用します。
19. 反応チューブを磁気スタンド上から下ろし、cfDNA 2nd Wash Solution を 1 mL 加え、ボルテックスで 30 秒間再懸濁します。
20. 反応チューブを軽く遠心分離し、懸濁液を底部に落とします。
反応チューブを磁気スタンド上で 2 分間または上清が透明になるまで静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。
21. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を除去します。
22. 19.~21.のステップを繰り返し行い、合計 2 回の cfDNA 2nd Wash Solution 洗浄を行います。
23. 反応チューブを軽く遠心分離し、懸濁液を底部に落とします。
反応チューブを磁気スタンド上で 2 分間または上清が透明になるまで静置し、溶液中の磁性

ナノ粒子を分離します。

24. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を可能な限り除去します。

25. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、磁性ナノ粒子を 3 分間乾燥させます。
湿度が高い場合は、乾燥時間を延長することも可能です。エタノールが残留している場合、溶出効率を低下させる場合があります。

E. 磁性ナノ粒子からの cfDNA の溶出

26. 反応チューブを磁気スタンド上から下ろし、下表の通りに cfDNA Elution Solution（青色のキャップ）を加えます。

Initial sample volume	1 mL	2 mL	4 mL	5 mL
Suggested elution volume	20 µL	40 µL	80 µL	100 µL

27. ボルテックスで再懸濁し、cfDNA を磁性ナノ粒子から解離するためにさらにボルテックスで 5 分間撹拌します。

28. 反応チューブを軽く遠心分離し、懸濁液を底部に落とします。
反応チューブを磁気スタンド上で上清が透明になるまで静置し、溶液中の磁性ナノ粒子を分離します。

29. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、精製 cfDNA を含む上清を新しい 1.5 mL マイクロチューブに移します。

30. 精製 cfDNA は、短期間の場合は 4℃で、長期間の場合は-20℃で保存します。

31. cfDNA の評価や定量を行う場合には、検出感度の高い (5 pg/µL) Agilent Technologies 社 Bioanalyzer 2100 + High Sensitivity DNA Analysis Kit の使用をお薦めします。

260501_QMJ_MiniMaxcfDNA

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　FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckman.com　URL http://www.beckmancoulter.co.jp