

DNAdvance

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

ベックマン・コールターの Solid Phase Reversible Immobilization (SPRI) 磁性ビーズ技術により、さまざまな組織・細胞からのゲノミック DNA 抽出に対応します。本プロトコルでは、マウス睾丸をサンプルとした抽出方法を解説しますが、その他の組織・細胞の DNA 抽出も可能です。

適用アプリケーション

アガロースゲル解析、PCR、制限酵素処理、メンブレン上でのハイブリダイゼーション解析 (サザンブロット・ドットブロットなど)、AFLP・RFLP・RAPD・マイクロサテライト・SNP を用いたジェノタイピング/フィンガープリンティング解析

保存方法

Lysis LBH	室温保存
Pre-Bind PBBA	室温保存
Bind BBE	4°C 保存
Elution EBA	室温保存
Proteinase K	-20°C 保存
Proteinase K Buffer	室温保存

本マニュアルの対応製品

A48705 DNAdvance 384 preps

A48706 DNAdvance 9600 preps

Material Supplied by the User

反応プレート

1.2 mL 96 ウェルプレート

例: Thermo Fisher Scientific, AB-1127

プレート用のシール

例: Thermo Fisher Scientific, AB-0662

磁気プレート

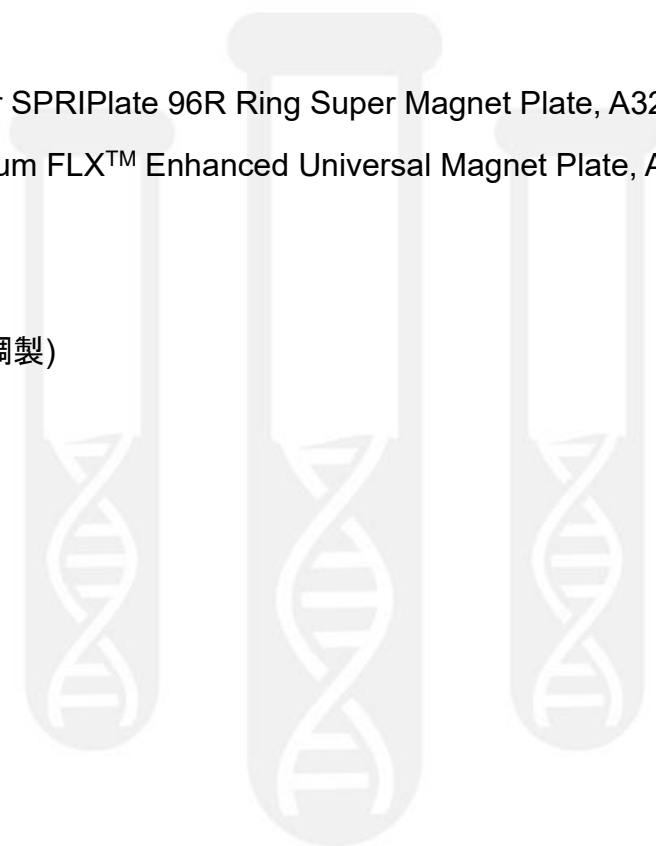
例: Beckman Coulter SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate, A32782

例: ALPAQUA Magnum FLX™ Enhanced Universal Magnet Plate, A000400

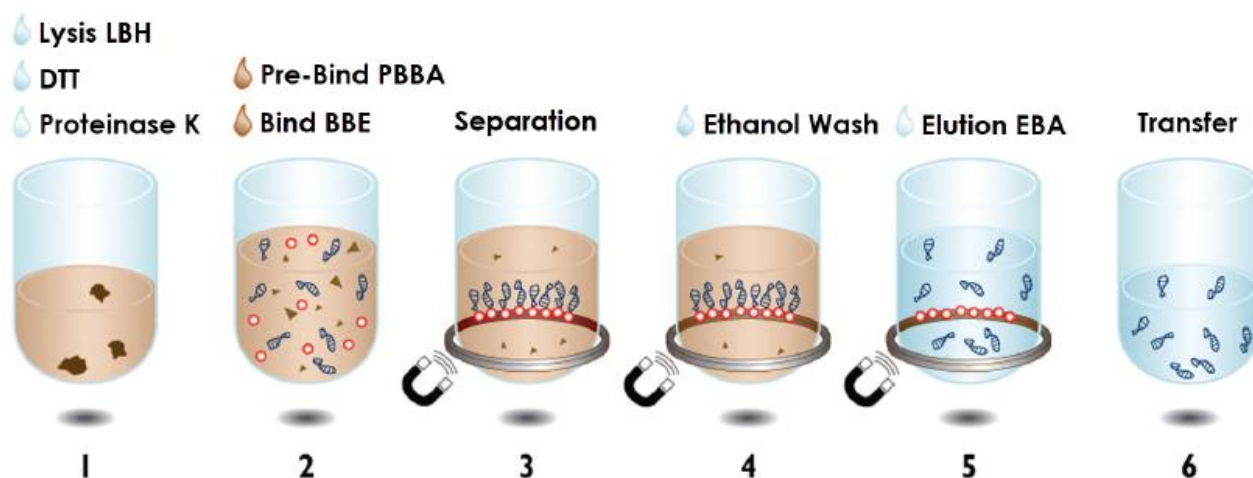
試薬

70%エタノール (用時調製)

1M DTT



Quick Reference



1. 最大 20 mg のサンプルと溶解用マスターミックス 200 μL を混合し、55°C、100 rpm で 18~20 時間振盪反応。
2. サンプルを新しい反応プレートに移す。Pre-Bind PBBA 100 μL を加え、ピペッティング 10 回で混合。Bind BBE 170 μL を加え、ピペッティング 15 回で混合し、室温で 1 分間静置。
3. 磁気プレート上で 4 分間静置し、上清を除去。
4. 磁気プレートから下ろし、70%エタノール 340 μL を加え、ピペッティング 20 回により再懸濁。磁気プレート上で 1 分間静置し、上清を除去。この 70%エタノール洗浄を再度繰り返す。
5. 磁気プレートから下ろし、Elution EBA 200 μL を加え、ピペッティング 10 回により再懸濁。磁気プレート上で 5 分間静置。
6. 精製 DNA を含む上清 190 μL を、保存用プレートに移す。

Purification Procedure (サンプル量 20 mg まで)

本プロトコルでは、マウステールをサンプル例とした抽出方法を解説しますが、その他の組織・細胞の DNA 抽出にも対応可能です。本キットを使用する際には、エアロゾル汚染を防ぐため、フィルター付きのピペットチップの使用を強くお勧めします。

1. Proteinase K 40 mg/mL 溶液を調製します。

Proteinase K のボトルに Proteinase K Buffer を、ラベルに記載された容量加え、混合します。調製後の溶液は、-20℃で保存します。

2. 最大 20 mg の組織・細胞サンプル (マウステール 10 mm 相当量) を細かく刻み、反応プレートに入れます。

3. 以下の通り、溶解用マスターミックスを調製します。

試薬	容量 (μL)
Lysis LBH	188
1M DTT	5
Proteinase K (40 mg/ml)	7

4. 反応プレートに溶解用マスターミックス 200 μL を加え、シールキャップで封をします。

5. 反応プレートを 55℃、100 rpm で 18~20 時間反応します。

サンプルの蒸発を防ぐため、プレートシールの上に金属ブロックなどを置いて密封します。

マウステールサンプルの場合、溶解用マスターミックスを入れる前に 37℃、30 分でプレインキュベートした場合には、反応時間を 4 時間に短縮することができます。

6. 反応終了後、反応プレートをインキュベーターから取り出します。

7. プレートシールを外す前に反応プレートを軽く遠心して、水滴などを落とします。
以降のステップをすぐに行わない場合、反応プレートを-80℃で保存できます。
8. サンプルを、新しい反応プレートに移します。
9. Pre-Bind PBBA 100 µL を加え、ピペッティング 10 回により混合します。
10. Bind BBE のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に懸濁します。
11. Bind BBE 170 µL を加え、ピペッティング 15 回により混合します。
磁性ビーズと DNA を結合するステップです。ピペッティングは泡立たないようにゆっくりと行ってください。気泡は磁性ビーズと DNA の結合を阻害し、収量を低下させます。
12. 反応プレートを室温で 1 分間静置します。
13. 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。
14. 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。
リング状の磁性ビーズを吸わないように、ピペットチップをウェル底中心に刺すようにします。
15. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、70%エタノール 340 µL を加えます。ピペッティング 20 回により磁性ビーズを十分に再懸濁します。
16. 反応プレートを磁気プレート上で 1 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
17. 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。
磁性ビーズを吸い取らないように注意してください。
18. ステップ 15~17 の 70%エタノール洗浄を再度繰り返してください。

19. Elution EBA を入れる前に、ウェル中のエタノールを可能な限り除去します。
20. 反応プレートが磁気プレートから下ろし、Elution EBA 200 μ L を加えます。ピペッティング 10 回により磁性ビーズを十分に再懸濁します。
21. 反応プレートが磁気プレート上で 5 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
22. 反応プレートが磁気プレート上に置いたままで、精製 DNA を含む上清 190 μ L を、保存用の新しいプレートに移します。
上清である Elution EBA 200 μ L 全量を吸い取ることは、磁性ビーズが混入する可能性があるためお勧めしません。磁性ビーズが混入した場合には、元の反応プレートに溶液を戻し、ステップ 21 からやり直してください。
23. 精製 DNA は、 -80°C で保存します。

230714_QMJ_DNAAdvance

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>