

Agencourt 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・コールターのスリッドフェーズリバーシブル固定化 (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プング/フィンガープリンティング解析

保存方法

Lysis Buffer	室温保存
Proteinase K	-20°C 保存
PK Buffer	室温保存
Bind1	室温保存
Bind2	4°C 保存
Elution Buffer	室温保存

本マニュアルの対応製品

A48705 DNAdvance 384 prep

A48706 DNAdvance 9600 prep

Material Supplied by the User

反応プレート

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルブロック

96 ウェル 2.2 mL ディープウェルブロックなど

上のプレート用のシールキャップ

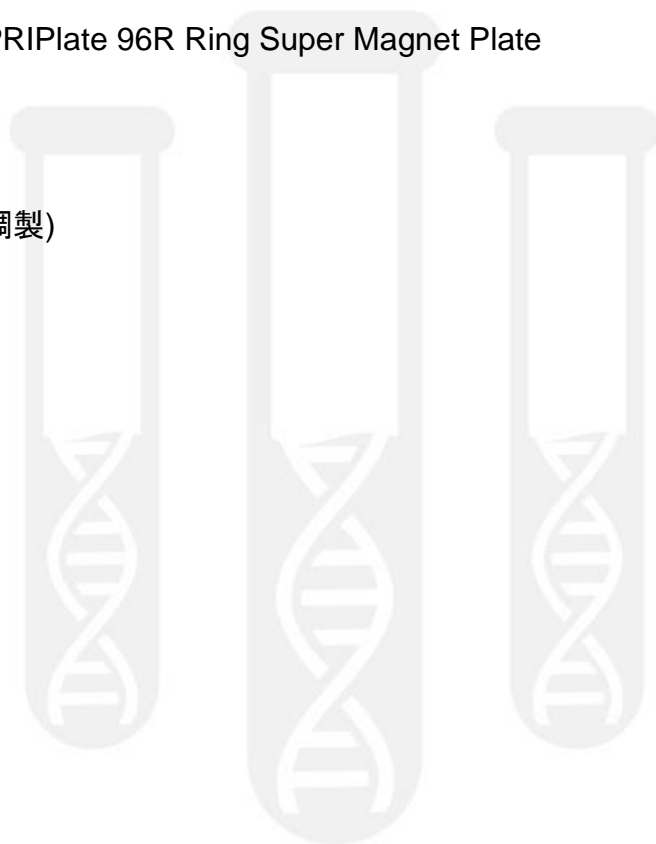
磁気プレート

A32782 Agencourt SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

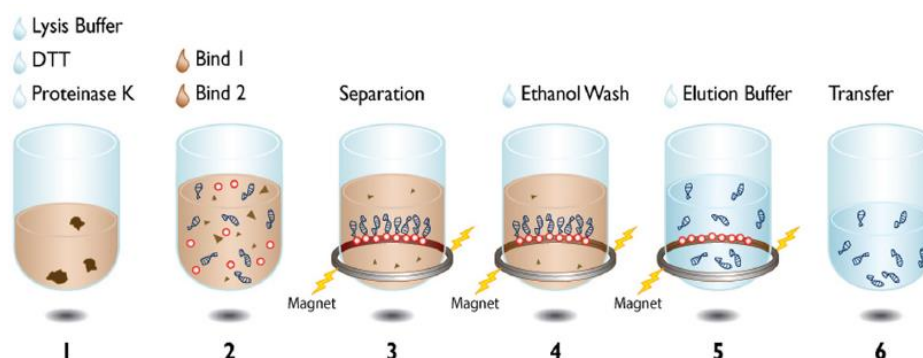
試薬

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 μ L 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。Bind 1 100 μ L を加え、ピペッティング 10 回で混合。Bind 2 170 μ L 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 μ L 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 Buffer 200 μ L 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 μ L 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、PK Buffer を 384 prep の場合は 3.25 ml、9,600 prep の場合は 81 ml 加えます。調製後の溶液は、-20°C 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 Buffer	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°C、100 rpm で 18~20 時間反応します。**

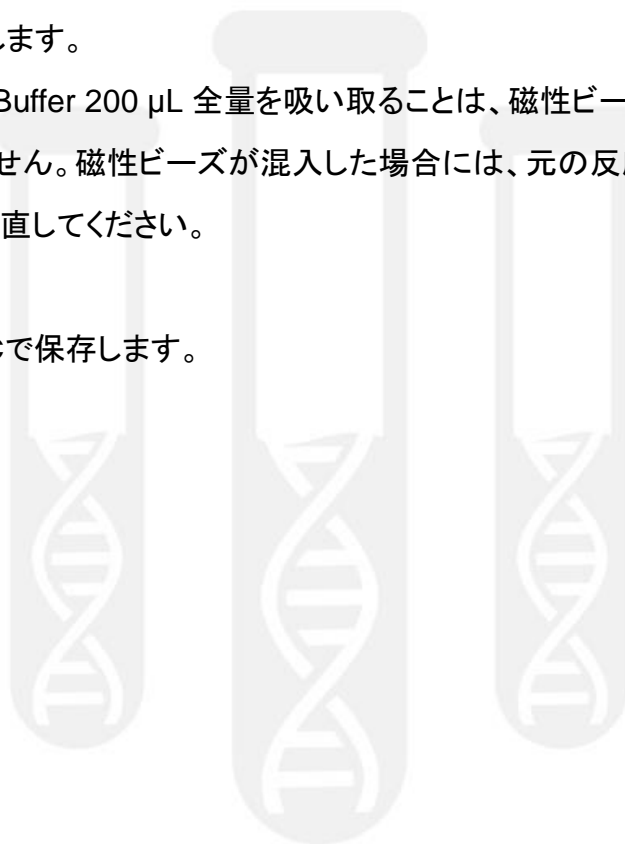
サンプルの蒸発を防ぐため、シールキャップの上に金属ブロックなどを置いて密封します。

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°C、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. シールキャップ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°C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. Bind 1 100 μ L を加え、ピペッティング 10 回により混合します。
10. Bind 2 のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に懸濁します。
11. Bind 2 170 μ L 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 μ L 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 Buffer を入れる前に、ウェル底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 Buffer 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 Buffer 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。



06-QMJ-161011

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>

