

# ゲノムDNA分離 クイックガイド

## DNA全血キット編

### QuickGene DNA whole blood kit L (DB-L)

 このシートは、全血からゲノムDNAを分離する手順を、キットハンドブック・取扱説明書から抜粋したものです。  
 ・キットハンドブック・取扱説明書をよく読み、正しくご使用ください。

 適切な保護手袋、および保護めがねを着用して作業を行ってください。

## step1 準備

目的のゲノムDNA分離を行うために、下記のものをご準備ください。

### 1 準備

QuickGene-Mini8L

DNA全血キット (DB-L)



特級エタノール (>99%)

1.5 ml マイクロチューブ (DNA 回収用)

15 または 50 ml 遠沈管 (前処理用)

マイクロピペット (P-1000)

ウォーターバス (56°C)

手袋

保護めがね

10 ml ピペット または 電動ピペッター



チューブミキサー



### 2 試薬の準備

#### ◆前処理酵素 (EDB)

凍結乾燥品を含む瓶に3.3mlのヌクレアーゼフリーの水を添加し、時々攪拌しながら室温に30分以上置き、完全に溶解させてください。

(溶解後は4°Cで2ヶ月間保存できます。それ以上長期間保存される場合は小分けにして-80°Cで保存してください。)

#### ◆溶解液 (LDB)

使用前に十分に混和してください。析出物が生じた場合は、37°Cで溶解してください。

#### ◆洗浄液 (WDB)

ご使用前のWDBボトルに特級エタノール (>99%) を160ml添加・混合してください。  
 エタノール添加後は、フタをきちんと閉めて室温で保存してください。

#### ◆回収液 (CDB)

核酸溶出時には、必ずCDBを使用してください。



続いて対応するプロトコールを行います。

## step2 プロトコール

目的の収量を得るため、必ず下記の手順で作業を行ってください。

本キットは、1処理あたり全血2 mlに対応しており、標準的なDNA収量は、30~80 µgです。  
回収量初期値は、500 µlです。回収量は100 µl まで下げられますが、その場合、溶出効率が低下する可能性があります。

全血は、抗凝固剤 (EDTA・2Na、EDTA・2Kまたはヘパリン) を用いて採血したできる限り新鮮なものをご使用ください。

### 1 ウォーターバスを56°Cに設定します。

### 2 QuickGene-Mini8Lに消耗品をセットします。

消耗品のセットに関してはQuickGene-Mini8Lの取り扱い説明書をご参照ください。

### 3 ライセートの作製

- 1) 溶解済みの前処理酵素 (EDB) 300 µlを15 ml 遠沈管の底に分注します。
- 2) 全血2 mlを添加します。(全血添加後、直ちに3)を行います。)
- 3) 溶解液 (LDB) 2.5 mlを添加し、直ちに転倒混和10回を行います。

転倒混和を確実にを行い、EDB、全血、LDBが十分に混合するようにします。  
次の作業でボルテックスを行います。もし、お持ちのボルテックスの最大回転数が2,500rpm以下の場合は、念入りに転倒混和 を行ってください。

- 4) 15秒間最大回転数(2,500 rpm以上推奨)でボルテックスを行います。

混合が不十分な場合、DNA収量の低下やカートリッジ(CA)の目詰まりが起こる場合があります。

- 5) 56°Cに設定したウォーターバスで5分間インキュベート

インキュベーション時間は、5分間延長までは収量に影響しません。  
ヒートブロックを使用する場合は、56°Cで30分間インキュベーションを行ってください。

- 6) 特級エタノール (>99%) を2.5 ml添加し、直ちに転倒混和10回を行う。
- 7) 15秒間最大回転数(2,500 rpm以上推奨)でボルテックスを行います。

混合が不十分な場合、DNA収量の低下やカートリッジ(CA)の目詰まりが起こる場合があります。

### 4 ライセート完成

ライセート完成後、30分以内に分離を行ってください。

続いてstep3 分離を行います。

## step3 分離

QuickGene-Mini8Lを使って、ゲノムDNAを分離します。

### QuickGene-Mini8L分離フロー

分離フロー中の加圧マーク  は下記操作を意味しています。

- ① 消耗品をセットしたホルダをQuickGene-Mini8Lにセットし、カートリッジの1列目が加圧ノズルの真下にくる位置まで押し込む。 ※ホルダセットの手順は装置の取り扱い説明書をご参照ください。
- ② 加圧スイッチをONの位置に回して加圧する。
- ③ カートリッジ内に液が残っていないことを確認してから加圧スイッチをOFFの位置に戻す。
- ④ ホルダをスライドさせ、カートリッジの2列目を加圧ノズルの真下に置き、②と③の手順を行う。
- ⑤ ホルダを装置から取り出す。

