

スピнкаラムによる DNA 抽出

各種サンプル組織片から DNA を抽出する。

必要なもの

- ・ 15mL または 50mL 遠沈管 4 本
- ・ 2mL チューブ 3 本 / sample
- ・ EconoSpin for DNA フタあり + 2mL 丸底チューブ 1 セット / sample
- ・ 20mg/mL Proteinase-K 2uL / sample
- ・ Insect Lysis Buffer 48uL / sample
- ・ Binding Buffer 102uL / sample
- ・ Wash Buffer 600uL / sample
- ・ 99.5% エタノール 190uL / sample
- ・ SPW 8uL / sample
- ・ TE 100uL
- ・ サンプル組織片 適量

手順

1. 15mL または 50mL 遠沈管で、Insect Lysis Buffer 48uL と 20mg/mL Proteinase-K 2uL をサンプル数 + 1 倍量混合する
2. サンプル組織片を予めラベルを振っておいたスピнкаラムに入れる
3. スピнкаラムに 1 を 50uL 加える
4. 56 °C で 1 時間以上インキュベートする
5. 15mL または 50mL 遠沈管で、Binding Buffer 50uL と 99.5% エタノール 50uL をサンプル数 + 1 倍量よく混合する
6. スピнкаラムに 5 を 100uL 加えて 1 分ほど転倒混和
7. 20 6000 × g で 1 分遠心し、チューブごと濾液を捨てて新しい 2mL チューブにスピнкаラムを移す
8. 15mL または 50mL 遠沈管で、Binding Buffer 52uL、99.5% エタノール 140uL、SPW 8uL をサンプル数 + 1 倍量よく混合する
9. スピнкаラムに 8 を 200uL 加えて 20 6000 × g で 1 分遠心し、チューブごと濾液を捨てて新しい 2mL チューブにスピнкаラムを移す
10. Wash Buffer 600uL を加えて 20 20000 × g で 3 分間遠心する
11. エタノールを除去するため、20 20000 × g でさらに 1 分間遠心する
12. 新しい 2mL チューブにスピнкаラムを移す
13. フタを開けて 56 °C で 30 分間インキュベートし、エタノールを飛ばす
14. 15mL または 50mL 遠沈管に TE 100uL をサンプル数 + 1 倍量入れて 56 °C に加温する
15. 加温した TE 50uL を加えて常温で 1 分インキュベート
16. 20 6000 × g で 1 分間遠心し、濾液を回収する
17. 加温した TE 50uL を加えて常温で 1 分インキュベート
18. 20 6000 × g で 1 分間遠心し、濾液を回収する

収量を増やすには、組織片を増やす、組織片のインキュベート時間を長くする（一晩以上）、DNA を溶出させる TE を増やす（ただし濃度は低下する）。