



Maxwell RSC Instrument でのマウス尾から DNA 抽出

サンプル：マウスの尾

使用キット： Maxwell RSC Whole Blood DNA Kit (カタログ番号 AS1520)

Tissue Lysis Buffer (カタログ番号 A5091)

Proteinase K Solution (カタログ番号 MC5005)

*Maxwell RSC Blood DNA Kitでも可 (Lysis Buffer/Proteinase Kはキットに含まれる)

プロトコール

- Proteinase K処理を行う場合

1. サンプルを1.5mlチューブに入れる。
2. Tissue Lysis Buffer 300 μ l、Proteinase K Solution 30 μ lを添加し、よくボルテックスする。
3. 65 $^{\circ}$ Cで60分間のProteinase K処理を行う。
4. 全量をMaxwellカートリッジのウェル#1へ添加し、核酸自動精製を実施する(約36分)。

* 溶出液は、60 μ lを添加

* 他のProteinase K処理溶液を利用してよい。

- Proteinase K処理を行わず、カートリッジのウェル#1に直接添加する場合

1. サンプルをカミソリ・はさみで細かく細断する。
2. Maxwellカートリッジのウェル#1へ添加し、核酸自動精製を実施(約36分)

結果

核酸定量は、NanoDrop 2000を用いて実施した。

サンプル	濃度 (ng/ μ l)	260/280	260/230
#1	48.5	1.83	1.1
#2	21.2	1.88	2.24
#3	91.5	1.85	0.9

#1:マウスの尾先端のやわらかい部分 (0.5cm) を直接Maxwellカートリッジのウェル#1へ添加

#2:マウスの尾中央のかたい部分 (0.5cm) を直接Maxwellカートリッジのウェル#1へ添加

#3:マウスの尾中央のかたい部分 (0.5cm) をPK処理し、Maxwellカートリッジのウェル#1へ添加。

考察

マウス尾を直接ウェル#1へ添加した場合、ウェル#1に含まれるグアニジンにより溶解されるが、攪拌時間が短いため、溶解効率が一定せず、収量はばらつく。しかし、ジェノタイプングPCRに必要な十分な純度と収量のDNAが得られた。

一方、高い収量とサンプル間の収量のバラつきを避けたい場合には、溶解効率に依存しないProteinase K処理の前処理を薦める。