

準備するもの

- ・ 振とうミキサー (血液攪拌用)
- ・ ボルテックスミキサー
- ・ 1.5ml 遠心チューブ
- ・ ヒートブロック (56° C)
- ・ マイクロ遠心機 (14,000×g)

プロトコール

1. 血液を、最初に振とうミキサーで10分間攪拌します (室温)。
凍結した血液は、完全に溶解した後に、10分間攪拌します。
2. 20 μ l の Proteinase K (PK) 溶液を、あらかじめ1.5ml 遠心チューブに分注しておきます。
3. 200 μ l の全血を、Proteinase K (PK) 溶液が入った、1.5ml チューブに加えて、攪拌します。
4. 200 μ l の Cell Lysis Buffer (CLD) を加えて、蓋をして、最低10秒間ボルテックスします。
☆良く攪拌することが収率を良くするために重要です。
5. 56° C で10分間 インキュベートします。
6. インキュベートの間に、ReliaPrep™ Binding Column (カラム) を袋から取り出し、空の Collection Tube にセットします。
7. インキュベートしていたサンプルをヒートブロックから取り出し、250 μ l の Binding Buffer (BBA) を加えて、蓋をして10秒間ボルテックスを行います。この際、溶液は濃い緑色に変化します。
☆良く攪拌することが収率を良くするために重要です。
8. 良く攪拌した溶液を ReliaPrep™ Binding Column に移し替え、蓋をして遠心します
9. 最大速度で、1分間遠心した後、溶液が完全にカラムを通過したことを確認します。もし溶液がカラムを完全に通過せずに残存している場合には、さらに数分間遠心します。
注) 時間はかかりますが、低速で遠心することも可能です。溶液が完全にカラムを通過したことを確認して次のステップへ進んでください。
10. Collection tube に貯まったフロースルーを廃棄します。カラムを新しい Collection tube にセットします。
11. 500 μ l の Column Wash Solution (CWD) を加えて、最大速度で3分間遠心します。フロースルーは廃棄します。
注) もし溶液がカラムに残るような場合には、さらに時間を延長します。
12. ステップ11を、さらに2回行います (合計3回の洗浄ステップになります)。
13. カラムを新しい1.5ml の遠心チューブにセットします。
14. 50-200 μ l の Nuclease-Free Water をカラムに加えて、最大速度で1分間遠心します。
注) 50 μ l で溶出する場合、DNA の濃度は高くなりますが、収量は25-30%低下します (下左図を参照してください)。

