

Wizard® SV Genomic DNA Purification System

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A2360 AND A2361.

Quick
PROTOCOL

吸引法プロトコル (マウス尾/動物組織：遠心法でも可能)

サンプル調製

1. マウス尾を 0.5 ~ 1.2cm の長さに切断、または組織サンプル < 20mg を秤量。マウス尾または組織サンプルをさらに2つに切断し、1.5ml マイクロ遠心チューブに入れる。
2. Digestion Solution Master Mix 275µl を各チューブに添加。

Digestion Solution Master Mix	Volume per Sample
Nuclei Lysis Buffer	200µl
0.5M EDTA (pH 8.0)	50µl
proteinase K, 20mg/ml	20µl
RNase A Solution, 4mg/ml	5µl
Total Volume	275µl

3. サンプルチューブを一晚 (16 ~ 18 時間) 55 °C のヒートブロックでインキュベート。
4. Wizard® SV Lysis Buffer 250µl を各サンプルに添加し、ボルテックス。
5. Lysis Buffer 添加後はできるだけ迅速にライセートを調製。-70 °C で凍結させている場合、ライセートは次の操作の前に55 °C、1時間 融解/加熱 (ライセートは操作前に温めておく必要がある)。

Vac-Man® Vacuum Manifoldを用いたゲノムDNAの精製

6. 各ライセートごとにWizard® SV Minicolumn 1つを使用。マニホルドのポートに取り付けられたLuer-Lok®にMiniprep Vacuum Adapter (カタログ番号 A1331)* を装着。静かにSV RNA Spin Basket をvacuum adapter に挿入し、マニホルドの未使用のポートが閉じていることを確認。
7. 調製したサンプルライセートをWizard® SV Minicolumnに移す。
8. ライセートがminicolumnを通過するまで吸引し、その後Luer-Lok® stopcockを閉じる。
9. Wizard® SV Wash Solution (95% エタノール添加済み) 800µlをminicolumnに添加。溶液がcolumnを通過するまで吸引し、その後ポートを閉じる。この洗浄操作を計4回繰り返す。
10. 各ポートを開き、メンブレンを乾燥させるために4分間吸引。
11. ポートを閉じ、吸引源を止め、陰圧を開放。
12. Wizard® SV Minicolumnを新しい1.5ml チューブに移す。室温のNuclease-Free Water 250µl をminicolumnに添加し、2分間室温でインキュベート。
13. minicolumnを装着したチューブを13,000 × g、1分間遠心。ステップ12-13の溶出操作を計2回行う (溶出液500µl)。
14. minicolumnを廃棄し、精製したDNAは-20 °C ~ -70 °C で保存。

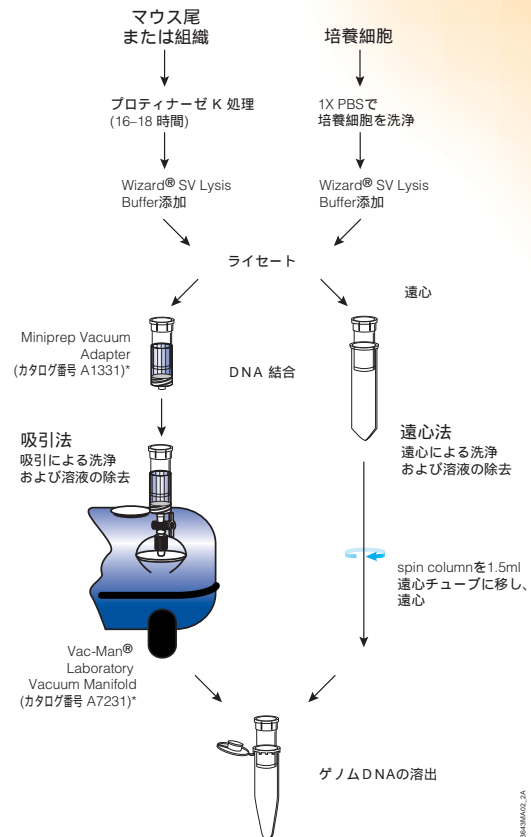
遠心法プロトコル (組織培養細胞：吸引法でも可能)

サンプル調製

1. 1×10^4 個 (最少) ~ 5×10^6 個 (最高) の細胞を1X PBSで1回洗浄
2. Wizard® SV Lysis Buffer 150µl を、洗浄したプレート中の細胞に添加し、ピペティングによりこのライセートを混和。
3. このライセートを直ぐに使用しない場合、使用時まで-70 °C で凍結保存可能。

遠心による培養細胞ライセートからのゲノムDNA精製

4. プレート中の各サンプルライセートをWizard® SV Minicolumn Assemblyに移す。
5. Assemblyを13,000 × g、3分間遠心。
6. Assemblyからminicolumnを外し、Collection Tube内の液体を除去。
7. Wizard® SV Wash Solution (95% エタノール添加済み) 650 µl各 assemblyに添加。13,000 × g、1分間遠心し、Collection Tube内の液体を除去。この洗浄操作を4回繰り返す。
8. Collection Tube内の液体を除去し、再びminicolumnをCollection Tubeに挿入。13,000 × g、2分間遠心し、メンブレンを乾燥。
9. Wizard® SV Minicolumnを新しい1.5ml tubeに移し、室温のNuclease-Free Water 250 µl を添加。室温で2分間インキュベート。
10. minicolumn/elution tube assembly を13,000 × g、1分間遠心 (溶出量は約250 µl)。
11. minicolumnを廃棄し、精製したDNAは-20 °C または-70 °C で保存。



Additional protocol information is available in Technical Bulletin #TB302, available upon request from Promega or online at www.promega.com

TECHNICAL INFORMATION:

www.promega.com.jp • Tel 03-3669-7980 • Fax 03-3669-7982



Promega

Revised 2/02
Part #9F0069J