

Wizard® SV 96 Genomic DNA Purification System

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A2370 AND A2371.

Quick
PROTOCOL

マウス尾断片、動物組織、培養細胞からのゲノムDNA精製

マウス尾断片、組織サンプルの調製

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、96ウェルディープウェルプレートに入れる（キットには含まれません）。
2. Digestion Solution Master Mix 275µl を各サンプルに添加。サンプルが溶液に覆われていることを確認。粘着シールでプレートをカバー。
3. プレートを一晩（16 ~ 18 時間）55 °C 恒温槽でインキュベート。水がプレート上にこまないことを確認。攪拌しない。
4. インキュベート後、Wizard® SV Lysis Buffer 250µl を各ウェルに添加。ライセートは操作中、温める。サンプルをピペッティングで混和。

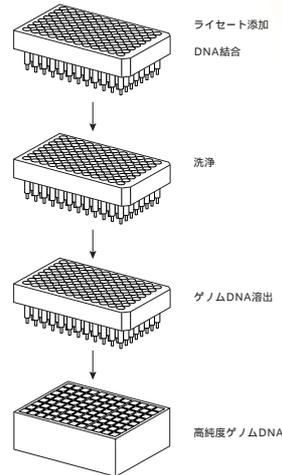
マウス尾断片、組織サンプルからのゲノムDNA精製

5. Manifold Base上にBinding Plateを置き、Manifold Baseの吸引ポートに吸引ホースを取り付ける（右図参照）。
6. ライセートをBinding Plateの各ウェルに添加。ライセートが Binding Plate を通過するまで吸引。
7. Wizard® SV Wash Solution（95% エタノール添加済み）1ml を各ウェルに添加。
8. Wash SolutionがBinding Plateを通過するまで吸引。ステップ 7-8 の洗浄操作を計3回繰り返す。
9. ウェルが空になった後、さらに6分間吸引を続け、をメンブレンを乾燥。
10. 吸引を停止後、Manifold Baseから吸引ホースを外し、Vacuum Manifold Collarの吸引ポートに繋ぎ換える（音がするまで）。Binding Plateを外し、静かに紙で余分なエタノールを吸い取る。
11. 96ウェルディープウェルプレートを Manifold Bedに置き、Vacuum Manifold Collar をその上に置く。数字の表示されたカラムヘッダーを吸引ポート側に向ける。
12. Binding PlateをManifold Collarの上に置く（右図参照）。
13. Binding Plateの各ウェルにNuclease-Free Water 250 µl を添加し、2分間、室温でインキュベート。
14. Nuclease-Free Water がBinding Plateを通過するまで吸引。
15. ステップ13-14 を再度繰り返す（総溶出液量 約 500µl ）。
16. 吸引を停止し、Binding Plateを取り外す。Manifold Collarを外し、ディープウェルプレートが Manifold Bed上にあることを確認。飛沫がウェルの上部にある場合は、プレートを静かにタッピングする。溶出液量は若干の差はありますが、通常 400 ~ 450 µl です。プレートは、plate sealerできつくカバーし、サンプルは-20 °C または-70 °C で保存。

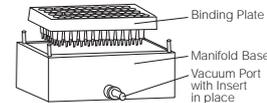
培養細胞からのゲノムDNA精製

1. 細胞を、滅菌した1X PBSで洗浄
2. 洗浄した細胞にWizard® SV Lysis Buffer 150µl を添加し、ピペッティングにより混和。
3. Manifold Base上にBinding Plateを置き、Manifold Baseの吸引ポートに吸引ホースを取り付ける（右図参照）。
4. ライセートをBinding Plateの各ウェルに添加。ライセートが Binding Plate を通過するまで吸引。
5. Wizard® SV Wash Solution（95% エタノール添加済み）1ml を各ウェルに添加。
6. Wash SolutionがBinding Plateを通過するまで吸引。ステップ 5-6 の洗浄操作を計3回繰り返す。
7. ウェルが空になった後、さらに6分間吸引を続け、をメンブレンを乾燥。
8. 吸引を停止後、Manifold Baseから吸引ホースを外し、Vacuum Manifold Collarの吸引ポートに繋ぎ換える（音がするまで）。Binding Plateを外し、静かに紙で余分なエタノールを吸い取る。
9. 96ウェルディープウェルプレートを Manifold Bedに置き、Vacuum Manifold Collar をその上に置く。数字の表示されたカラムヘッダーを吸引ポート側に向ける。
10. Binding PlateをManifold Collarの上に置く（右図参照）。
11. Binding Plateの各ウェルにNuclease-Free Water 250 µl を添加し、2分間、室温でインキュベート。
12. 1分間吸引。
13. 吸引を停止し、Binding Plateを取り外す。Manifold Collarを外し、ディープウェルプレートが Manifold Bed上にあることを確認。飛沫がウェルの上部にある場合は、プレートを静かにタッピングする。溶出液量は若干の差はありますが、通常 約225 µl です。プレートは、plate sealerできつくカバーし、サンプルは-20 °C または-70 °C で保存。

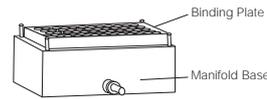
Digestion Solution Master Mix	Volume per Sample
Nuclei Lysis Buffer	200µl
0.5M EDTA (pH 8.0)	50µl
proteinase K, 20mg/ml	20µl
RNase A Solution, 4mg/ml	5µl
Total Volume	275µl



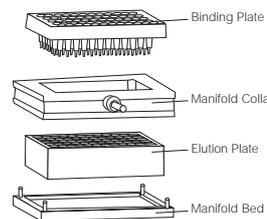
A. Genomic DNA Binding Apparatus



B. Washing Apparatus



C. Elution Apparatus



Additional protocol information is available in Technical Bulletin #TB303, available upon request from Promega or online at www.promega.com



Promega

TECHNICAL INFORMATION:

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

Revised 2/02
Part #9F8070J