

Spin Column Method Protocol

Silica-gel Spin Column法のゲノム抽出精製キットは迅速で高純度のゲノムDNAを全血、組織培養細胞、動物組織、植物組織、イースト、グラム陽性・陰性バクテリアなどから単離抽出精製するためのキットです。Silica-gel Spin Column法の特徴は2価カチオンや蛋白などのPCRインヒビターを完全に除去可能、高純度のゲノムDNAの前処理が可能な点にあります。Silica-gel Spin Column法で抽出精製された高純度ゲノムDNAはリアル・タイムPCR、サザン・プロット、ジェノタイプング、SNP/SSRマーカーの発見やバリデーションなどのダウン・ストリーム実験に最適です。フェノールやクロロホルムなどを使わないので実験操作は安全に行え、有害な廃棄物を生じません。

血液 <i>Blood</i>	細胞溶解 <i>Cell Lysis</i> <ul style="list-style-type: none">●全血200 μLに対して1 mLの<i>NGB1 buffer</i>を加え混和●氷上で10分、インキュベート●インキュベート中に2~3回ボルテックス●室温で10分、12000Gで遠心●上清を完全に除去●600 μLの<i>NGD2 buffer</i>をベレットに加える●短時間のボルテックス
	スピncラムへのローディング <i>Column Loading</i> <ul style="list-style-type: none">●スピncラムを2 mLのコレクション・チューブにセット●セル・ライセートをスピncラムにピペッティング●12000Gで1分、遠心
	1次カラム洗浄 <i>Primary Column Washing</i> <ul style="list-style-type: none">●500 μLの<i>Washing buffer</i>を加える●12000Gで30秒、遠心●通過画分の廃棄
	2次カラム洗浄 <i>Secondary Column Washing</i> <ul style="list-style-type: none">●500 μLの<i>Washing buffer</i>を加える●12000Gで30秒、遠心●通過画分の廃棄●12000Gで1分、遠心し残留<i>Washing buffer</i>を除去●2 mLコレクション・チューブを廃棄●スピncラムを1.5 mLチューブ(グライナー616201など)にセット
	DNA溶出 <i>Elution of DNA</i> <ul style="list-style-type: none">●40~50 μLの<i>Elution buffer</i>をスピncラムの中央に滴下●室温で1分、インキュベート●12000Gで2分、遠心●DNAを4°Cで保存

<p>植物組織 <i>Plant Tissue</i></p> <p>植物組織からのDNA抽出に於いて最適なDNA収量と純度を得るには、スタート時の試料の量の適正化が重要です。</p> <p>1Prepで最大80mgの植物試料を処理できます。80mgを越える量の新鮮または凍結植物試料の処理はお勧めできません。</p> <p>植物組織は-70℃で数ヶ月、保存可能です。</p> <p>植物組織を液体窒素で凍結し、電動グラインダーやベッスルで植物組織を粉砕してください。</p> <p>植物組織粉を1.5mLチューブに移し替え、液体窒素の気相にて保存。</p>	<p>細胞溶解 <i>Cell Lysis</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●250 μLの<i>NGD1 buffer</i>を組織粉に加える ●30~60秒、強力なボルテックス ●250 μLの<i>NGD2 buffer</i>をライセートに加える ●30~60秒、強力なボルテックス ●8 μL(10mg/mL)の<i>ProteinaseK</i>をライセートに加える ●ピペッティングによる攪拌混和 ●70℃で10分、インキュベート後、クール・ダウン ●室温で5分、12000Gで遠心
	<p>スピнкаラムへのローディング <i>Column Loading</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●スピнкаラムを2mLのコレクション・チューブにセット ●ライセートをスピнкаラム中央へピペッティング ●12000Gで1分、遠心 ●通過画分を廃棄
	<p>1次カラム洗浄 <i>Primary Washing</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●500 μLの<i>Washing buffer</i>をスピнкаラムに加える ●12000Gで30秒、遠心 ●通過画分を廃棄
	<p>2次カラム洗浄 <i>Secondary Washing</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●500 μLの<i>Washing buffer</i>をスピнкаラムに加える ●12000Gで30秒、遠心 ●通過画分の廃棄 ●12000Gで1分の遠心、残留<i>Washing buffer</i>を除去 ●2mLコレクション・チューブを廃棄 ●スピнкаラムを1.5mLチューブ(グライナー616201など)にセット
	<p>DNA溶出 <i>Elution of DNA</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●40~50 μLの<i>Elution buffer</i>をカラム中央に滴下 ●室温で1分、インキュベート ●12000Gで2分、遠心 ●DNAを4℃で保存

<p>動物細胞 <i>Animal cells</i></p> <p>動物組織からのDNA抽出に於いて最適なDNA収量と純度を得るには、スタート時の試料の量の適正化が重要です。</p> <p>1Prepで最大80mgの動物試料を処理できます。80mgを越える量の新鮮または凍結動物試料の処理はお勧めできません。</p> <p>動物組織は-70℃で数ヶ月、保存可能です。</p> <p>動物組織を液体窒素で凍結し、電動グラインダーやベッスルで動物組織を粉砕してください。</p> <p>動物組織粉を1.5mLチューブに移し替え、液体窒素の気相にて保存。</p>	<p>細胞溶解 <i>Cell Lysis</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●350 μLの<i>NGD1 buffer</i>を組織粉に加える ●30~60秒、強力なボルテックス ●8 μL(10mg/mL)の<i>ProteinaseK</i>をライセートに加える ●ピペッティングによる攪拌混和 ●70℃で10分、インキュベート後、クール・ダウン ●室温、12000Gで5分、遠心 ●上清を新しい1.5mLチューブ(グライナー616201など)へ移し替える ●400 μLの<i>NGD2 buffer</i>をライセートに加える ●30~60秒、強力なボルテックス ●室温、12000Gで5分、遠心
	<p>スピнкаラムへのローディング <i>Column Loading</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●スピнкаラムを2mLのコレクション・チューブにセット ●ライセートをスピнкаラム中央へピペッティング ●12000Gで1分、遠心 ●通過画分を廃棄
	<p>1次カラム洗浄 <i>Primary Washing</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●500 μLの<i>Washing buffer</i>をスピнкаラムに加える ●12000Gで30秒、遠心 ●通過画分を廃棄
	<p>2次カラム洗浄 <i>Secondary Washing</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●500 μLの<i>Washing buffer</i>をスピнкаラムに加える ●12000Gで30秒、遠心 ●通過画分を廃棄 ●12000Gで1分の遠心、残留<i>Washing buffer</i>を除去 ●2mLコレクション・チューブを廃棄 ●スピнкаラムを1.5mLチューブ(グライナー616201など)にセット
	<p>DNA溶出 <i>Elution of DNA</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ●40~50 μLの<i>Elution buffer</i>をカラム中央に滴下 ●室温で1分、インキュベート ●12000Gで2分、遠心 ●DNAを4℃で保存

血液・動物・植物からの ゲノムDNA抽出キット	
NGB1 buffer	血液試料専用バッファ
NGD1 buffer	動物・植物組織試料専用バッファ
NGD2 buffer	血液・動物・植物試料共用バッファ
Proteinase K	動物・植物からのゲノムDNA抽出に使用。使用前に5mg当たり500 μ Lの再蒸留水を加える
Washing buffer	<ul style="list-style-type: none"> ●PP-213S(50Preps)キット (12mLバッファ1本) 使用前に48mLの純度96~99%エタノールを加える (final volume 60mL) ●PP-213L(250Preps)キット(30mLバッファ2本) 使用前に120mLの純度96~99%エタノールを加える (final volume 150mL)
Elution buffer	100 μ L per Prep
2mL collection tube	
Spin Column	12000Gで遠心
Kitに含まれないもの	
96-99% Ethanol	
再蒸留水	
1.5mL Elution tube	グライナー-616201など

(株)グライナー・ジャパン	Greiner Bio-One Co., Ltd.
東京都港区赤坂2-17-44	http://www.greiner-bio-one.co.jp
東京本社	電話03-3505-8875(代表) FAX8945(器材・機器) 8879(受託・試薬)
新大阪オフィス 学術本部	電話06-4805-7115(代表) FAX06-4805-7171(学術)