

FUJIFILM

Wako

Code No. 295-58501 (50 assays)

for the research of forensic medicine

DNA Extractor FM Kit

[Preface]

Identification of individual by DNA analyses is powerful method in forensic medicine. However, samples for forensic DNA analyses obtained in the scene are often insoluble materials such as body hairs, nails, salivary stains and blood stains, which usually contain quite limited amounts of DNA. Therefore, it is sometimes difficult to examine DNA due to complicated hard isolation procedures or its insufficient recovery. This kit provides a rapid procedure for isolation of DNA from such the rigid materials, overcoming difficulties described above by combining rapid solubilization of DNA from the rigid materials with our original NaI DNA extraction procedure without use of harmful organic solvents such as phenol and chloroform.

[Assay Materials]

Body hair (2 pieces of 1 cm long or the less), nail (0.5 mg or the less), saliva stain, blood stain

[Features]

1. Solubilizes a variety of tough hairs as body hair completely within several ten minutes.
2. Useless of harmful organic solvents such as phenol and chloroform.
3. Avoids loss of DNA from limited amounts of sample DNA unlike solid phase DNA extraction by non-specific absorption of DNA to solid support.
4. Attains DNA purification with nearly 100% recovery by using NaI-DNA Extraction.
5. Ready to use DNA preparation obtained by the kit in DNA amplification as the polymerase chain reaction.
6. Provides a set of essential reagents for the procedure with the kit.

[Kit contents] (For 50 assays)

Lysis Solution	9.5 mL	× 1
Enzyme-activated Reagent (EAR)	80 mg	× 1
Reconstitution Solution for EAR	500 μ L	× 1
Protease	10 mg	× 1
Sodium Iodide Solution	12.5 mL	× 1
Washing Solution (A)	50 mL	× 1
Washing Solution (B)	50 mL	× 1

[Storage]

2-10 °C

[Materials and apparatuses prepared]

2-Propanol
Sterilized distilled water
Microcentrifuge
1.5mL-microfuge tubes
Microdispensors

[Procedure]

1. Preparation of reagent solutions and their storage

Following working solutions should be prepared after check of the solutions provided, in which whether precipitin arose during storage. The working solutions prepared with the solutions containing precipitin may significantly reduce potency of solubilization to sample materials. Use such the solutions after precipitin is dissolved by warming at 37-60 °C.

1) Reconstitution of EAR (EAR Solution): Dissolve 80 mg of EAR in 0.5 mL of the reconstitution solution provided. On the storage, keep it at -20 °C. The solution is stable for 3 months even though with repeated freezing-thawing.

2) Preparation of Enzyme Solutions: Dissolve 10 mg of Protease provided in 0.55 mL of sterilized distilled water (SDW) (**Enzyme Solution**) except the case for nail.

For nail, use three-fold Diluted Enzyme Solution with SDW. The solution stored at -20 °C is stable for 3 months even though repeated freezing-thawing.

2. Procedures

1) A variety of body hairsⁱ

- (1) Rinse a hair with 1 mL Ethanol by shaking centrifuge tube.
- (2) Take out the hair from the tube, and dry it by removing ethanol with soft tissue papers.
- (3) Cut a hair into 2 pieces of 1 cm in length. More than 2 pieces of hair may be inappropriate owing to inhibitory effect of melanin in the body hairs to DNA amplification reaction.
- (4) Put the body hairs into a 1.5 mL microfuge tube, and add 190 μ L of Lysis Solution, 10 μ L of EAR Solution and 10 μ L of Protease Solution^{*1} in this order, followed by vortexing.^{*2}
- (5) Incubate the mixture at 56-60 °C for 20-40 min.^{*3}
- (6) Centrifuge the tube at 10,000-15,000 rpm (9,600-21,600 $\times$ g) for a few minutes.^{*4}
- (7) Carefully, transfer 200 μ L of the supernate by pipette to a new tube, letting insoluble materials left in the tube.^{*5}

^{*1} The reagent solutions pre-mixed before addition to the tube can be used, but need vortexing to be homogeneous because of formation of precipitate on mixing.

^{*2} Make sure that sample materials sink under the solution.

^{*3} In the middle of and at the end of incubation, make sure resuspension of sample material by vortexing.

^{*4} Do not use flash centrifugation.

^{*5} Insoluble materials contain melanin that may inhibit DNA amplification reaction.

- (8) Add 250 μL of Sodium Iodide Solution, followed by addition of 450 μL of 2-Propanol to the tube, and mixing well.
 - (9) Centrifuge the tube at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 10 min at 4 $^{\circ}\text{C}$.
 - (10) Remove the supernate, leaving the pellet^{*6} in the tube.
 - (11) Add 1 mL of Washing Solution (A) to the tube, and vortex the tube so vigorously that the pellet may detach from wall of the tube.^{*7}
 - (12) Centrifuge at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 $^{\circ}\text{C}$.
 - (13) Carefully remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.
 - (14) Add 1 mL of Washing Solution (B) to the tube, and vortex well so as to detach the pellet from the wall.
 - (15) Centrifuge at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 $^{\circ}\text{C}$.
 - (16) Carefully remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.^{*8}
 - (17) Dry the pellet under a reduced pressure or by warming.
 - (18) Dissolve the pellet in an appropriate volume of TE Buffer from 20 to 50 μL .^{*9}
- 2) Blood stain and saliva stainⁱⁱ
- (1) Excise blood or saliva stain to approximately 5×5 mm, and process maximally 2 sheets of approximately 5×5 mm for an extraction.
 - (2) Put the excised stain in a 1.5 mL microfuge tube, and add 190 μL of Lysis Solution, 10 μL of EAR Solution and 10 μL of Enzyme Solution, in this order^{*1}, followed by vortexing.^{*2}
 - (3) Incubate for 3-4 hours at 56-60 $^{\circ}\text{C}$.^{*3}
 - (4) Remove the solution from the tube as much as possible, and transfer it to a new tube.^{*5}
 - (5) Add the 2.5 volume of NaI and 4.5 volume of 2-Propanol to the 2 volume of supernate.
 - (6) Centrifuge at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 10 min at 4 $^{\circ}\text{C}$.
 - (7) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet^{*6} in the tube.
 - (8) Wash the pellet with 1 mL of Washing Solution (A) by adding it to the tube and vortexing.^{*10}

*6 Pellet can be seen due to glycogen as a carrier.

*7 Although DNA-amplification may be less reproducible, washing with the solution (A) from (11)-(13) can be omitted.

*8 At this stage, the pellet may be transparent, and hard to see.

*9 DNA can be amplified with 1/2-1/10 volume of sample, depending upon the samples. Some staining reagents for body may be inhibitory for DNA amplification.

*10 Although DNA-amplification may be less reproducible, washing with the solution (A) from (8)-(10) can be omitted.

*11 Nail of 1 mm squares weigh about 0.5 mg. Smaller pieces of nail, faster resolution by the solution. Thus, cut the nail into small pieces more than 2. Nail polish and the like should be clean up before extraction.

*12 Although DNA-amplification may be less reproducible, washing with the solution (A) from (11)-(13) can be omitted.

- (9) Centrifuge at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 °C .
 - (10) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.*⁷
 - (11) Add 1mL of Washing Solution (B) and vortexing vigorously.
 - (12) Centrifuge the tube at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 °C .
 - (13) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.*⁸
 - (14) Dry the pellet under a reduced pressure or by warming.
 - (15) Dissolve the pellet in an appropriate volume of TE Buffer from 20 to 50 μL .*⁹
- 3) Nailⁱⁱⁱ
- (1) Cut about 0.5 mg of nail into small pieces of $0.5 \times 1 \text{ mm}$.*¹¹
 - (2) Put the pieces in a 1.5 mL microfuge tube, and add 190 μL of Lysis Solution, 10 μL of EAR Solution and 10 μL of Diluted Enzyme Solution, in this order, followed by vortexing.*²
 - (3) Incubate the tube at 56-60 °C.*³
 - (4) Add 10 μL of Diluted Enzyme Solution, to the tube 2 times every 4 hour interval, and then continue incubation over night.
 - (5) Certify resolution of nail by vortexing the tube.
 - (6) Centrifuge the tube at 10,000-15,000 ($9,600-21,600 \times g$) for a few minutes.*⁴
 - (7) Carefully, remove and transfer 200 μL of the supernate to a new tube, leaving insoluble materials in the tube.
 - (8) Add 250 μL of Sodium Iodide Solution and 450 μL of 2-Propanol to the new tube in this order, followed by vortexing.
 - (9) Centrifuge the tube at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 10 min at 4 °C .
 - (10) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet*⁵ in the tube.*⁶
 - (11) Wash the pellet with 1 mL of Washing Solution (A) by adding it to the tube and vortexing.*¹²
 - (12) Centrifuge at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 °C .
 - (13) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.*⁷
 - (14) Add 1 mL of Washing Solution (B) and vortexing vigorously.
 - (15) Centrifuge the tube at 12,000-15,000 rpm ($13,800-21,600 \times g$) for 5-10 min at 4 °C.*⁸
 - (16) Carefully, remove the supernate from the tube, leaving the pellet in the tube.
 - (17) Dry the pellet under a reduced pressure or by warming.
 - (18) Dissolve the pellet in an appropriate volume of TE Buffer from 20 to 50 μL .*⁹

i

Body hair. That rinsed by ethanol (2pieces of 1cm in length)

←190 μ L Lysis solution

←10 μ L EAR solution

←10 μ L Enzyme solution

(Make sure of body hair sinks in the solution)

Incubate for 20-40min at 56-60°C

Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for a few minutes

Supernate(200 μ L)

←250 μ L NaI solution

←450 μ L 2-Propanol

Cent. 13,800-21,600 $\times$ g for 10min, 4°C

Pellet

←1mL Washing solution (A)

Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for 5-10min, 4°C

Pellet

←1mL Washing solution (B)

Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for 5-10min, 4°C

Pellet

Dry by warming or reduced pressure

←20-50 μ L TE Buffer

DNA solution

ii

Blood or saliva stain (5mm×5mm)

←190 μ L Lysis solution
←10 μ L EAR solution
←10 μ L Enzyme solution

Incubate for 3-4h at 56-60℃

Cent. 9,600-21,600 × g for a few minutes

Supernate (For example 200 μ L)

←250 μ L NaI solution } * Sup 2 : NaI 25 : 2-propanol 4.5
←450 μ L 2-propanol

Cent. 13,600-21,600 × g for 10min, 4℃

Pellet

←1mL Washing solution (A)

Cent. 9,600-21,600 × g for 5-10min, 4℃

Pellet

←1mL Washing solution (B)

Cent. 9,600-21,600 × g for 5-10min, 4℃

Pellet

Dry by warming or reduced pressure

←20-50 μ L TE Buffer

DNA solution

iii

Nail (less than 0.5mg with 0.5×1 mm squers)

←190 μ L Lysis solution

←10 μ L EAR solution

←10 μ L Diluted enzyme solution, twice every 4 hour interval

Incubate for over night at 56-60°C

→Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for a few minutes, 4°C

Supernate(200 μ L)

←250 μ L NaI solution

←450 μ L 2-Propanol

→Cent. 13,800-21,600 $\times$ g for 10min, 4°C

Pellet

←1mL Washing solution (A)

→Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for 5-10min, 4°C

Pellet

←1mL Washing solution (B)

→Cent. 9,600-21,600 $\times$ g for 5-10min, 4°C

Pellet

Dry by warming or reduced pressure

←20-50 μ L TE Buffer

DNA solution

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggenstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

コード No. 295-58501 (50回用)

法医学研究用

DNA エキストラクター-FMキット

【はじめに】

法医学的 DNA 鑑定は対象の個人を特定する鑑定法として威力を発揮しています。事件現場における鑑定の対象となる検体は、体毛や爪、血痕といった難溶解性のものや極く僅かな DNA を含有するものが多く、取得した DNA の少なさ、収率の悪さが鑑定の障害となる場合があります。本キットはこれらの諸問題を解決するべく、検体の迅速な溶解を成し遂げ、且つ、有害なフェノール / クロロホルムに代わる弊社独自の高収率な DNA 抽出法である「よう化ナトリウム法」を組み合わせ、法医学的材料に適した DNA 抽出法をキット化したものです。

【対 象】

ヒト体毛（約 1 cm × 2 本以内）、爪（約 0.5 mg 以内）、唾液斑、血痕

【特 長】

- (1) ヒト体毛を数十分で完全溶解します。
- (2) 有害な有機溶剤であるフェノールやクロロホルムを使用しません。
- (3) 固相化抽出法を行わないため、担体への吸着等による微量 DNA のロスが生じません。
- (4) 100%に近い回収率の「よう化ナトリウム法」による DNA 精製を行いません。
- (5) 核酸増幅反応に適した DNA サンプルが取得できます。
- (6) 一連の操作に必要な試薬類を殆どセット化しています。

【キットの内容】 50回用

溶解液 (Lysis Solution)	9.5 mL	1本
酵素活性化剤 (Enzyme-activated Reagent)	80 mg	1本
酵素活性化剤溶解液 (Reconstitution Solution for Enzyme-activated Reagent)	500 μ L	1本
タンパク質分解酵素 (Protease)	10 mg	1本
よう化ナトリウム溶液 (Sodium Iodide Solution)	12.5 mL	1本
洗浄液 (A) [Washing Solution (A)]	50 mL	1本
洗浄液 (B) [Washing Solution (B)]	50 mL	1本

【保存条件】

冷蔵保存（2～10℃）

【キット以外に必要なもの】

2-プロパノール
滅菌済み蒸留水
冷却式微量高速遠心機
マイクロチューブ（1.5 mL 容）
ピペット等、マイクロピペッター（1 mL～10 μ L）

【操作方法】

【試薬の調製、及び保存条件など】

- ・保存中、「溶解液」の内容物が析出、沈殿することがあります。そのまま使用すると、溶解力が著しく低下しますので、析出物が認められないことを確認してからお使い下さい。もし、析出が認められた場合は、加温（37～60℃）により、溶解してからお使い下さい。
- ・（酵素活性化剤溶液の調製）：「酵素活性化剤（80 mg）」に 500 μ L の酵素活性化剤溶解液を添加して、溶解して下さい。

・（注）溶解後の酵素活性化剤（酵素活性化剤溶液）は、－20℃で凍結保存して下さい。3ヶ月間は凍結融解を繰り返しても安定であることを確認しております。

- ・ (タンパク質分解酵素溶液の調製) : タンパク質分解酵素 (10 mg) は、550 μ L の滅菌済み蒸留水を添加して、溶解して下さい。
爪を試料とする場合は、それを3倍希釈して使して下さい。その他の試料の場合は、そのままの濃度で使して下さい。
- ・ (注) 溶解後のタンパク質分解酵素 (タンパク質分解酵素溶液) は、 -20°C で凍結保存して下さい。
3ヶ月間は凍結融解を繰り返しても安定であることを確認しております。

【操 作 法】
(体毛の場合)

【体毛のエタノール洗浄方法の例】

- (a) マイクロチューブに約 1 mL のエタノールを添加して下さい。
 - (b) そこへ、切断前の体毛を入れて下さい。
 - (c) 転倒混合した後、体毛を取りだし、ペーパータオルなどの上で、エタノールを充分除去して下さい。
- (1) 体毛^{*1)} は、1 cm 程度に切断して下さい^{*2)}。
- *1) 使用前に、エタノール洗浄をお奨めします。
 - *2) 下記溶解液に完全に浸る体毛の長さは 1 cm 以下を目安としております。メラニンが増幅反応を阻害する場合がありますので、なるべく2本以内 (合計 2 cm 以内) を試料としてお使い下さい。
- (2) 切断した毛髪を、マイクロチューブ (1.5 mL 容) に入れ、190 μ L の溶解液、10 μ L の酵素活性化剤溶液、10 μ L のタンパク質分解酵素溶液を添加して、混合して下さい^{*3)}、^{*4)}。
- *3) これらの溶液は、使用直前に混合することもできます。その場合は、内容物の折出が生じますので、必ず、よく混合し、均一にしてから、検体に添加して下さい。
 - *4) 添加した後、体毛が、溶液に完全に浸っていることを確認して下さい。
- (3) $56^{\circ}\text{C} \sim 60^{\circ}\text{C}$ で、20 $\sim$ 40分間、インキュベーションして下さい^{*5)}。
- *5) インキュベーション途中又は終了時、ボルテックス等で混合して、溶解を確実にして下さい。
- (4) 10,000 $\sim$ 15,000 rpm (9,600 $\sim$ 21,600 $\times$ g) で、1 $\sim$ 2分間、遠心して下さい^{*6)}。
- *6) フラッシュ遠心より、多少長めの遠心をして下さい。
- (5) 不溶性沈澱を取らないように注意して、上清 200 μ L を別のマイクロ遠沈管に移して下さい^{*7)}。
- *7) メラニンは、増幅反応を阻害することがありますので、沈澱物の混入は避けて下さい。
- (6) よう化ナトリウム溶液 250 μ L、及び 2-プロパノール 450 μ L を順次添加して、混合して下さい。
- (7) 12,000 $\sim$ 15,000 rpm (13,800 $\sim$ 21,600 $\times$ g) で、10分間、 4°C で遠心して下さい。
- (8) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい^{*8)}。
- *8) 試薬中に共沈剤としてグリコーゲンが入っていますので、沈澱は目視で確認できます。
- (9) 洗浄液 (A) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい^{*9)}。
- *9) ステップ (9) $\sim$ (11) を省略し、洗浄液 (B) による1回洗浄でも、十分に増幅反応等へ適用できるサンプルが得られますが、安定したデータを得るためには、洗浄液 (A) と (B) による2回洗浄をお奨めします。

- (10) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600×g) で、5～10分間、4℃で遠心して下さい。
(11) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい*10。

*10) この工程では、沈澱が透明化し、確認しづらくなる場合があります。

- (12) 洗浄液 (B) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい。
(13) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600×g) で、5～10分間、4℃で遠心して下さい。
(14) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい。
(15) DNA 沈澱を、加温や減圧により、乾燥させて下さい。
(16) 適当量 (20～50 μ L 程度) の TE Buffer 等で溶解して下さい*11。

*11) 検体により異なりますが、核酸増幅反応などを行う場合、試料の 1/2～1/10 が適用できます。又、毛髪に染色剤が増幅反応を阻害することがあります。

(血痕、唾液斑の場合)

- (1) 血痕や唾液斑などの斑痕状のものは、5 mm×5 mm 程度に切り取ってください。1 回に 5 mm×5 mm の斑痕 2 枚ぐらいまで処理できます。
(2) 切り取った斑痕を、マイクロチューブ (1.5 mL 容) に入れ、190 μ L の溶解液、10 μ L の酵素活性化剤溶液、10 μ L のタンパク質分解酵素溶液を添加して、混合して下さい*1)、*2)。

*1) これらの溶液は、使用直前に混合することもできます。その場合は、内容物の析出が生じますので、必ず、よく混合し、均一にしてから、添加して下さい。

*2) 添加した後、斑痕が、溶液に完全に浸っていることを確認して下さい。

- (3) 56℃～60℃で、3～4時間、インキュベーションして下さい*3)。

*3) インキュベーションの途中又は終了時、ボルテックス等で混合して、溶解を確実にして下さい。

- (4) 溶液を別のマイクロチューブに移して下さい (このとき出来るだけ溶液を回収して下さい)。
(5) 回収液の量を 2 に対して、よう化ナトリウム溶液 2.5、2-プロパノール 4.5 の比率 (2 : 2.5 : 4.5) で順次添加して、混合して下さい (例えば回収液が 200 μ L の時、よう化ナトリウム溶液 250 μ L、及び 2-プロパノール 450 μ L を添加します)。
(6) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600×g) で、10分間、4℃で遠心して下さい。
(7) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい*4)。

*4) 試薬中に共沈剤としてグリコーゲンが入っていますので、沈澱は目視で確認できます。

- (8) 洗浄液 (A) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい*5)。

*5) ステップ (8)～(10) を省略し、洗浄液 (B) による 1 回洗浄でも充分に増幅反応等へ適用できるサンプルが得られますが、安定したデータを得るためには、洗浄液 (A) と (B) による 2 回洗浄をお奨めします。

- (9) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600×g) で、5～10分間、4℃で遠心して下さい。
(10) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい*6)。

*6) この工程では、沈澱が透明化し、確認しづらくなる場合があります。

- (11) 洗浄液 (B) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい。
(12) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600×g) で、5～10分間、4℃で遠心して下さい。
(13) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい。
(14) DNA 沈澱を、加温や減圧により、乾燥させて下さい。
(15) 適当量 (20～50 μ L) の TE Buffer 等で溶解して下さい。

(爪の場合)

(1) 約 0.5 mg 以下の爪を 0.5 mm × 1 mm 程度の大きさに切断して下さい*1).

*1) 0.5 mg の爪は、約 1 mm 角の大きさです。爪の溶解度合いは、その大きさに大きく依存し、細かく切断するほど容易になりますので、それを 2 個以上に切断して下さい。

(2) 切断した爪を、マイクロチューブ (1.5 mL 容) に入れ、190 μ L の溶解液、10 μ L の酵素活性化剤溶液、10 μ L のタンパク質分解酵素溶液*2) を添加して、混合して下さい*3)。

*2) 【試薬の調製、及び保存条件など】の項に記載したように、タンパク質分解酵素溶液は、他の試料の場合より 3 倍薄い濃度に希釈し、使用して下さい。

*3) これらの溶液は、使用直前に混合することもできます。その場合は、内容物の析出が生じますので、必ず、よく混合し、均一にしてから、添加して下さい。

(3) 56℃～60℃でインキュベーションして下さい。

(4) 4 時間おきに 1 μ L ずつタンパク質分解酵素溶液を 2 回追加し、その後、終夜でインキュベーションして下さい*4)。

*4) 仮に、1 mg 程度の爪を材料としたい場合は、タンパク質分解酵素溶液を、体毛等の場合より 4 倍薄い濃度にし、10 μ L ずつ 4 回に分けて 3 時間おきに添加して、且つ、終夜反応前に 5 μ L の酵素活性化剤溶液を追加すると、良好な結果が得られます。ただし、その場合も、爪は、上記の大きさ (0.5 mm × 1 mm 角程度) に細切する必要があります。

(5) インキュベーションの途中又は終了時、ボルテックス等で混合して、溶解を確実にして下さい。

(6) 10,000～15,000 rpm (9,600～21,600 × g) で、1～2 分間、遠心して下さい*5)。

*5) フラッシュ遠心より、多少長めの遠心をして下さい。

(7) 不溶性沈澱を取らないように注意して、上清 200 μ L を別のマイクロチューブに移して下さい。

(8) よう化ナトリウム溶液 250 μ L、及び 2-プロパノール 450 μ L を順次添加し、混合して下さい。

(9) 12,000～15,000rpm (13,800～21,600 × g) で、10 分間、4℃で遠心して下さい。

(10) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい*6)。

*6) 試薬中に共沈剤としてグリコーゲンが入っていますので、沈澱は目視で確認できます。

(11) 洗浄液 (A) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい*7)。

*7) ステップ (11)～(13) を省略し、洗浄液 (B) による 1 回洗浄でも十分に増幅反応等へ適用できるサンプルが得られますが、安定したデータを得るためには、洗浄液 (A) と (B) による 2 回洗浄をお奨めします。

(12) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600 × g) で、5～10 分間、4℃で遠心して下さい。

(13) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい*8)。

*8) この工程では、沈澱が透明化し、確認しづらくなる場合があります。

(14) 洗浄液 (B) を 1 mL 添加して、沈澱が器壁から剥がれる程度に、充分混合して下さい。

(15) 12,000～15,000 rpm (13,800～21,600 × g) で、5～10 分間、4℃で遠心して下さい。

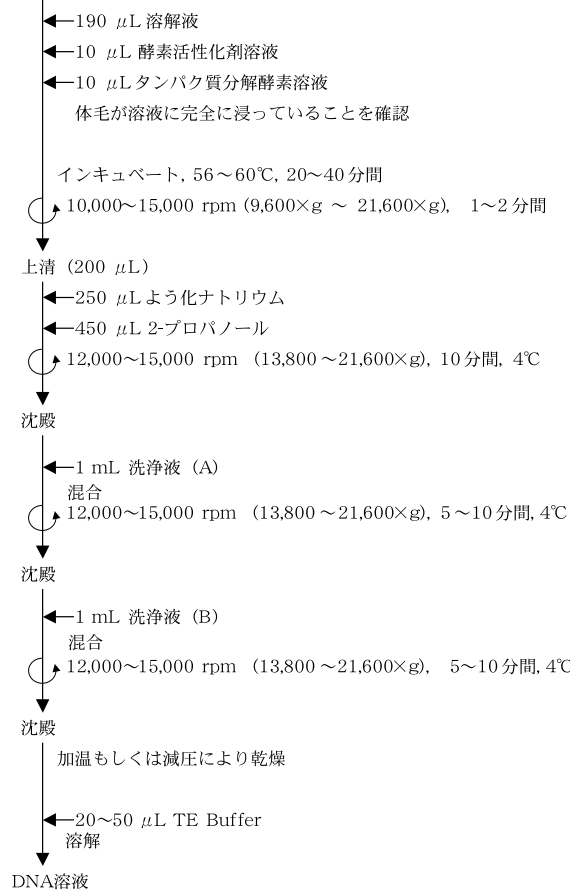
(16) 沈澱を落とさないように注意しながら、上清を除いて下さい。

(17) DNA 沈澱を、加温や減圧により、乾燥させて下さい。

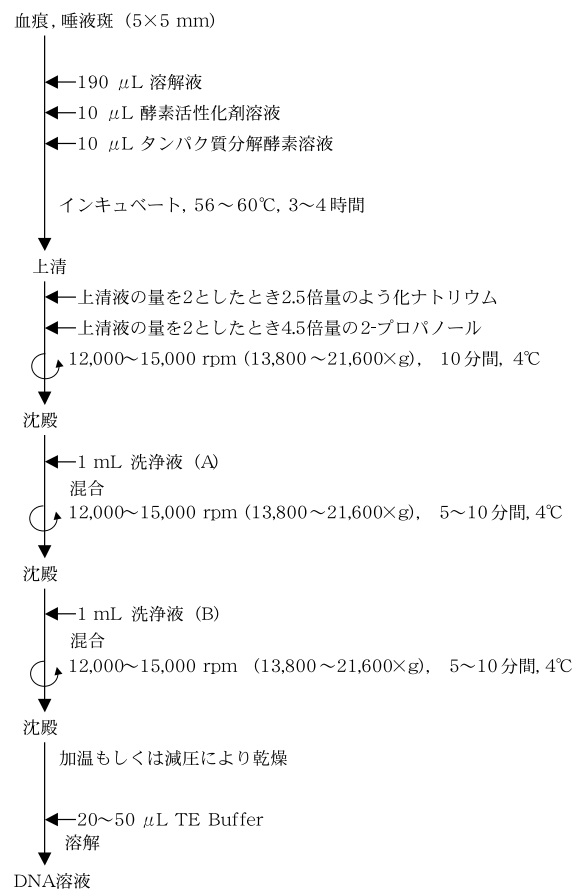
(18) 適当量 (20～50 μ L) の TE Buffer 等で溶解して下さい。

ヒト体毛からの DNA 回収プロトコール

エタノール洗浄した体毛 (1 cm 以下)

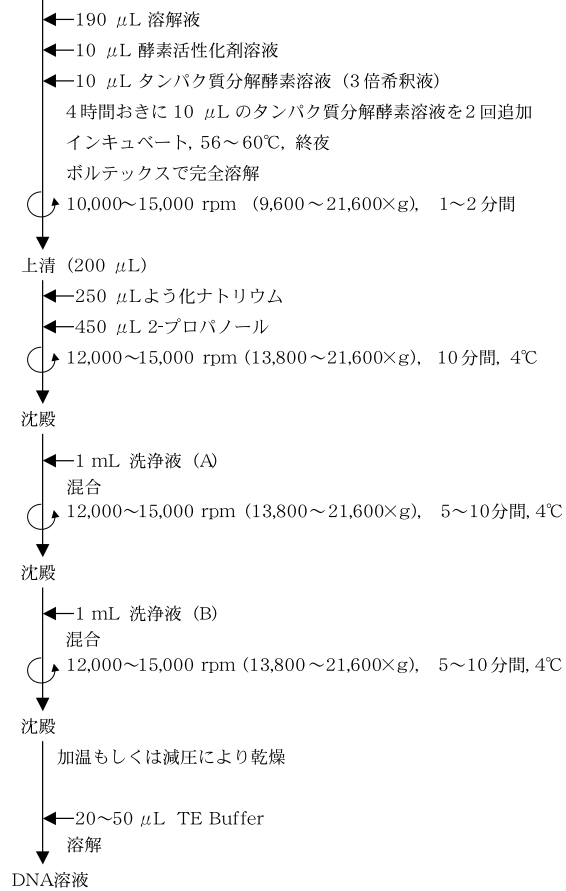


血痕からの DNA 回収プロトコル



爪からの DNA 回収プロトコール

爪 (約 0.5 mg 以下を 0.5 mm×1 mm に切断)



製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741

2305KA2