

# NGS 解析にあたっての メタゲノム用 DNA サンプルの準備について

## 目次

<参考>メタゲノム解析用 DNA 抽出方法.....	2
メタゲノム DNA の必要量及び クオリティチェックについて.....	3
お問い合わせ先.....	3

## <参考>メタゲノム解析用 DNA の抽出方法

PowerSoil DNA Isolation Kit (MO BIO) を使用

※実験中は常に手袋着用

1. PowerBead Tube に土壌 (動物組織) サンプルを 0.25 g 入れる。
2. 穏やかに vortex する。
3. Solution C1 が沈殿していたら、使用する前に Solution C1 が解けるまで 60°C で温める。
4. Solution C1 を 60  $\mu$ l 入れ、短く vortex する (もしくは 5~6 回転倒させる)。
5. 70°C で 5 分間インキュベートした後、vortex で攪拌し、再び 70°C で 5 分間インキュベートする。
6. チューブを vortex のパッドの上にテープで水平に固定し、MAX の speed で 10 分間 vortex する。
7. 室温、30 秒、10,000g で遠心する。
8. 上清を 2 ml チューブに移す。
9. Solution C2 を 250  $\mu$ l 入れて 5 秒間 vortex 後、4°C で 5 分間インキュベートする。
10. 室温、1 分、10,000g で遠心する。
11. 沈殿を吸わないように気を付けて、上清 600  $\mu$ l を 2 ml のチューブに移す。
12. Solution C3 を 200  $\mu$ l 入れて vortex 後、4°C で 5 分間インキュベートする。
13. 室温、1 分、10,000g で遠心する。
14. 沈殿を吸わないように気を付けて、上清 750  $\mu$ l を 2 ml のチューブに移す。
15. Solution C4 を 1,200  $\mu$ l 加え、5 秒間 vortex する。
16. 約 675  $\mu$ l の上清を Spin Filter に入れ、室温、1 分、10,000g で遠心し、下の液を捨てる。この過程を 3 回繰り返す。
17. Solution C5 を 500  $\mu$ l 加え、室温、30 秒、10,000g で遠心し、下の液を捨てる。
18. 再び 室温、1 分、10,000g で遠心する。
19. 慎重に Spin Filter を 2 ml のチューブに移す。
20. Solution C6 100  $\mu$ l を白い Filter 膜の真ん中に加える。
21. 室温、30 秒、10,000g で遠心する。
22. Spin Filter を捨て、チューブに回収した溶液をメタゲノム解析用 DNA 溶液とする。

※得られた DNA 溶液は -20 度 ~ -80 度の Freezer で保存する。

## メタゲノム DNA の必要量及びクオリティチェックについて

### 必要量

**10 ng/ $\mu$ l** のサンプルを **20  $\mu$ l 以上** ご準備ください。

(純度によっては、少量でもできる場合がございます。)

### クオリティチェック

遺伝子実験棟でのクオリティチェックに用いるため、必要量とは別に、以下に示す量をあらかじめ分注してお持込ください。

1) 蛍光定量 : 1.5  $\mu$ l  $\cdots$  1 本

Invitrogen 社の Qubit または Promega 社の Quantus を用いて dsDNA の蛍光定量を行います。

### お問い合わせ先

ご不明な点がございましたら、下記お問い合わせ先にご連絡ください。

- ・ 次世代シーケンス解析担当者共通アドレス  
[kyoudou@suml.cii.ac.jp](mailto:kyoudou@suml.cii.ac.jp)
- ・ 准教授 道羅英夫 (TEL : 054-238-6354)  
[dora.hideo@shizuoka.ac.jp](mailto:dora.hideo@shizuoka.ac.jp)
- ・ 特任助教 兼崎友 (TEL : 054-238-4385)  
[kanesaki.yuh@shizuoka.ac.jp](mailto:kanesaki.yuh@shizuoka.ac.jp)
- ・ 技術職員 森内良太 (TEL : 054-238-5061)  
[moriuchi.ryota@shizuoka.ac.jp](mailto:moriuchi.ryota@shizuoka.ac.jp)

2018.10.1