

Arabidopsis genomic DNA quick preparation

1. 2 ml チューブ + 3 mm アルミナビーズ(5 個) + Q P Buffer(3 0 0 μ l)を準備する。
Q P Buffer $\left\{ \begin{array}{l} 2 0 0 \text{ mM Tris-HCl pH} 7.5 \\ 2 5 0 \text{ mM NaCl} \\ 2 5 \text{ mM EDTA pH} 8.0 \\ 0.5 \% \text{ SDS} \end{array} \right.$
2. ロゼット 3 mm ~ 1 cm 四方をチューブに入れる。葉は数枚の量でも可能。(注 1)
3. TOMY マルチチューブミキサー『MT - 3 6 0』を使用し、最大パワーで 5 ~ 7 分破碎する。
処理が終わり他のサンプルを待っている間、サンプルは室温で保存して良い。
4. この間に、1.5 ml チューブまたは 9 6 well P C R プレートに 2 5 0 μ l のイソプロパノールを分注。
5. クロロフォルム 2 0 0 μ l を加え、ボルテックス。
6. TOMY 微量遠心機『MX - 3 0 1』を使用し、1 2 , 0 0 0 rpm、3 分以上、室温で遠心。(注 2)
7. 上清(約 2 5 0 μ l)を取って、(4.)で準備したイソプロパノールに混合、攪拌。
8. 1.5 ml チューブの場合は、1 4 , 0 0 0 rpm、3 分以上、4 にて遠心。
P C R プレートの場合は、4 , 0 0 0 rpm、1 5 分、4 にて遠心。
9. 上清を捨て、7 0 %エタノール 5 0 0 μ l (P C R プレートの場合は 200 μ l) でリンス。
10. 8 と同様に遠心。
11. 上清を捨ててドライアップ。
12. T E 2 0 - 3 0 μ l に懸濁、1 4 , 0 0 0 rpm で 2 分遠心して上清を P C R に使用する。

(注 1) もっと小さい組織からでも OK。植物組織が少ない時は、バッファを 1 5 0 μ l 程度まで減らしても良い。その分、イソプロパノールの量を少なくすること。

サンプル数が少ない時は、1.5 ml チューブとすりこぎ棒を使ってすりつぶす方法も有効。
この場合、クロロフォルム抽出は不要。

(注 2) アルミナビーズが入っているので、1 2 , 0 0 0 rpm 以上で遠心するとチューブが割れる可能性がある。低温で遠心すると SDS が析出する。

(コメント) クロロフォルム抽出は必ずしも必要ではない。(3.)で粉碎した粗抽出液を遠心し、上清をイソプロパノール沈殿・リンスするだけでも PCR には支障ない。

参考文献 : K. Edwards, et al, *Nucleic Acids Res.* **19**, 1349 (1991)