



DNA すいすい-S

DS-0001N

～DNA 簡易抽出バッファー～

デンプンの多い穀類種子・加工品向け

取扱説明書

Ver. 1.01

RIZO Inc.

目次

	ページ
本製品の特長	3
内容物	3
保存条件	3
使用上の注意	3
その他必要な機器・試薬	4
分析試料からの DNA 抽出プロトコール	5-6
トラブルシューティング	7
データ集	8-9
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品は、デンプンの多い穀物種子や加工品等*からのDNA簡易抽出に最適な抽出バッファーです。精製カラムを使用せず操作ステップ数も少ないため、スピーディーで低コストのDNA簡易抽出が可能です。

抽出したDNAはそのままPCR反応に使用できます。

*加工条件等によってはDNA自体が分解され、抽出できない場合がございます。

内容物

抽出バッファー 85 mL × 2本 (約420回分)

保存条件

冷蔵保存 (4℃) して下さい。

使用上の注意

本試薬は研究目的以外にご使用にならないでください。また、分子生物学に関する基本的知識のある方以外は取り扱わないでください

*記載内容や製品仕様、および価格に関しては予告なしに変更する場合がございます。

その他必要な試薬・機器

試薬

イソプロパノール（特級）

70% エタノール*

TE（10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0）もしくは
蒸留滅菌水

*エタノール（分子生物学用）：蒸留滅菌水を 7：3 の容積比で混合したものを
利用ください。

機器

微量高速遠心機

ミルサーなどの粉碎機器

その他

1.5 ml チューブ

マイクロピペット

ピペットチップ

分析試料からのDNA抽出プロトコール

1. 分析試料をミルサー等^{注①}で粉碎し、粉状にした試料 30~60 mg^{注②}を新しい1.5 ml チューブに入れます。
2. 本試薬 (DNA すいすい) を400 μ l 入れ、ボルテックス等で約1分間懸濁します。
3. 15,000 rpm、室温 (20~25°C) で10分間遠心分離を行います。
4. 上清 200 μ l を新しい1.5 ml チューブにとり、イソプロパノールを200 μ l (上清と同量) 添加し、よく混和します。
5. 15,000 rpm で10分間遠心分離を行います。
6. 上清を捨て^{注③}、70% エタノールを800 μ l 入れ、沈澱の洗浄を行います。
7. 15,000 rpm、4°C で10分間遠心分離を行います。
8. 上清を捨て、沈澱を乾燥 (風乾) ^{注④}します。
9. 50~100 μ l の TE もしくは滅菌水に溶解し^{注⑤}、PCR 反应用試料とします。

***注①~⑤については次ページの「注解および留意点」をご参照ください。**

注解

注①分析試料をアルミホイルでくるみ、ラジオペンチ等でつぶして粉状にしたものでも可能です。粉状にすることが困難な試料の場合は、本試薬を添加後、ピペットチップの先など利用して、試料を丁寧に潰してください。

注②分析試料を多く入れ過ぎますと DNA の収量の低下や多量の夾雑物持ち込みの原因となり、PCR 反応に影響を及ぼす可能性が考えられます。

注③沈澱が流出しないようご注意ください。

注④乾燥させすぎると TE もしくは滅菌水への溶解が困難になります。

注⑤分析試料の生物種や状態、PCR 反応系の違いにより最適量が異なりますので、それぞれの分析試料に合わせて適宜、調製して下さい。

留意点

夾雑物などの影響により PCR 反応がうまく行えないと考えられる場合は、以下の①もしくは②の操作をご検討下さい。

①上記プロトコル「3」の後に上清と等量のフェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール（SIGMA 社製 Cat. No. P2069 など）を加え、ボルテックス等で攪拌後、15,000 rpm、室温（20～25℃）で 10 分間遠心分離を行ってください。上清を回収し、上記プロトコル「4」以降の操作を引き続き行ってください。

②加熱により糊化しにくい分析試料*であれば、上記プロトコル「2」の後に 65℃で 30 分間インキュベーションし、引き続き上記プロトコル「3」以降の操作を行ってください(*炊飯米などはお勧めしません)。

本プロトコルは微量サンプルからの DNA 簡易抽出用に考案されています。

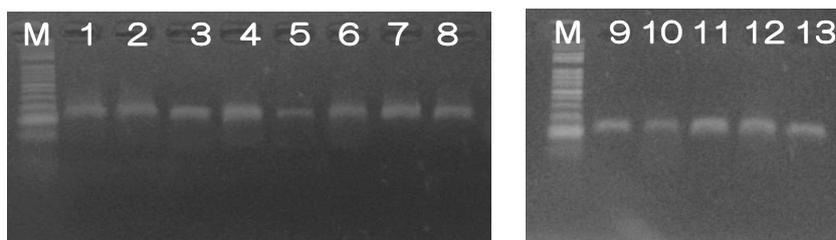
トラブルシューティング

問題	考えられる原因	対策
DNA の収量が低い。	試料の粉碎が不十分である可能性が考えられます。	できるだけ試料を細かく粉碎して下さい。粉状にすることが困難な試料の場合は、本試薬を添加後、ピペットチップの先などを利用して、試料を丁寧に潰して下さい。
	試料から本製品（抽出バッファ）への DNA 抽出が不十分である可能性が考えられます。	試料に本製品を添加した後、ボルテックス等でよく懸濁してから遠心分離を行ってください。
イソプロパノール添加後に多量の白色沈澱が生じ、70%エタノールによる洗浄後も残存している。	分析試料に多量のタンパク質や脂質が含まれている可能性が考えられます。	DNA 抽出プロトコルの「3」の後に上清と等量のフェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール（SIGMA 社製 Cat. No. P2069 など）を加え、ボルテックス等で攪拌後、15,000 rpm、室温（20～25℃）で10分間遠心分離を行ってください。上清を回収し、プロトコル「4」以降の操作を引き続き行ってください。

データ集

①穀物・豆類種子および加工品を用いた実験例

本製品を使用して DNA 簡易抽出を行い、厚生労働省通知法記載の植物 DNA 検出用プライマー対（CPO3 プライマー、124 bp が増幅）を使用して PCR を行いました。



2% Agarose

M: Marker (100 base pair ladder)

- | | |
|--------------|-------------------------------|
| 1 精米（1粒から抽出） | 8 サツマイモ（生） |
| 2 玄米（1粒から抽出） | 9 ソバ（ α 化加工品） |
| 3 大豆（乾燥） | 10 緑豆（ α 化加工品） |
| 4 小豆（乾燥） | 11 トウモロコシ
（ α 化加工品） |
| 5 小麦粉 | 12 ハトムギ（ α 化加工品） |
| 6 片栗粉 | 13 炊飯米（1粒から抽出） |
| 7 ジャガイモ（生） | |

(PCR 反応系)

Template DNA* (μ l)	1~6 (μ l)
10 \times Buffer	3
dNTP mixture (2.0mM each)	3
primer (4 pmol each/ μ l)	3
Taq** (5units/ μ l)	0.25
H ₂ O	
Total	30 μ l

*DNA 抽出液を 10~100 倍に希釈したものを使用。

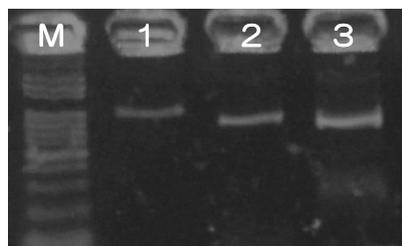
**Stratagene Paq5000 を使用

(PCR 条件)

95°C 2 min.
94°C 30 sec. }
60°C 30 sec. } 40 cycles
72°C 30 sec. }
72°C 7 min. }

② 玄米を用いた実験例

本製品を使用して玄米からDNA簡易抽出を行い、イネの様々な染色体上に存在する遺伝子の増幅が可能か検討を行いました。



2% Agarose
M: Marker (100 base pair ladder)

- 1 染色体 1、Nucleotide pyrophosphatase precursor (900 bp)
- 2 染色体 5、Aminophospholipid fipase 10 (825 bp)
- 3 染色体 12、UDP-glucose 6-dehydrogenase (809 bp)

(PCR 反応系)

Template DNA*	1 (μl)
10×Buffer	3
dNTP mixture (2.0mM each)	3
primer (4 pmol each/μl)	3
Taq** (5units/μl)	0.25
H ₂ O	
Total	30 μl

*DNA 抽出液を 10 倍に希釈したものを使用。

**Stratagene Paq5000 を使用

(PCR 条件)

95°C 2 min.
94°C 30 sec. }
55°C 30 sec. } 35 cycles
72°C 60 sec. }
72°C 7 min.

お問合せ先

株式会社リーゾ

研究部

茨城県つくば市天久保 2-9-2-B201

Tel ; 029-852-9351 Fax ; 020-4623-5611

E-mail ; info@rizo.co.jp

ホームページ ; <http://www.rizo.co.jp/>

Copyright ©2009-2010 RIZO Inc. All Right Reserved.