



DNA すいすい-F

DS-0005

～DNA 簡易抽出バッファー～

魚類体表粘膜・組織向け

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
試料からの DNA 抽出プロトコール	5-7
トラブルシューティング	8
本製品を用いた抽出例	9-10
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品「DNA すいすい-F」は、魚類の体表粘膜・組織からのDNA抽出に最適な抽出バッファーです。

魚の体表をスワブ（綿棒）で軽くこするだけで、魚体に傷をつけることなくDNA抽出用試料を採取できます。

もちろん、ヒシや筋肉、内臓などからのDNA抽出にも好適です。

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抽出が可能です。

抽出したDNAはそのままPCR解析に使用できます。

内容物

DNA すいすい-F 85 mL（約210回分）

保存条件

開封後は冷蔵保存（4℃）して下さい。

結晶が析出した場合には、しばらく室温に置き、溶解してからご使用ください。

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、DNA操作及び試薬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

70% エタノール*

フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）**

滅菌蒸留水または TE バッファー

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

** 結晶フェノールをトリスバッファー（pH8.0）で飽和させたトリス飽和フェノールに対しクロロホルムを 1：1 の容積比で混合したものをご利用ください。又は、フェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール（25：24：1、SIGMA 社製 Cat No. P2069 など）でも代用可能です。

機器

微量高速遠心機

ヒートブロックまたはウォーターバス

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

綿棒（個別包装のもの）

丈夫なハサミ（キッチンバサミなど）

分析試料からのDNA抽出プロトコール

1. DNA すいすい-F 400 μ l を 1.5ml チューブに入れます。
2. 魚の体表をスワブ（綿棒）で軽くこすります^{注①}。分析試料がヒレ、エラ、内臓、筋肉などの組織の場合には、5~50mg を目安に採取します。
3. 2. のスワブを1. のチューブに入れ、すみやかに本品となじませます。丈夫なはさみなどで軸を切り落とし、蓋をします。分析試料が組織の場合には、すみやかに本品となじませます^{注②}。
4. 60°Cにセットしたヒートブロックまたはウォーターバスを用いて15分間保温します。
5. しばらく氷上において冷却したのち、フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）を200 μ l 加え、転倒混和します。スワブを取り出す必要はありません（このステップは、スワブの場合は省略可能です）。
6. 15,000 rpm、10分間遠心分離を行います。
7. 上清200 μ l を新しい1.5ml チューブに移し、イソプロパノール200 μ l を加えてよく混和します。
8. 15,000 rpm、10分間遠心分離を行います。
9. 上清を捨て^{注③}、70% エタノールを400 μ l 入れ、沈澱の洗浄を行います。
10. 15,000 rpm、10分間遠心分離を行います。
11. 上清を捨て、沈澱を乾燥（風乾）^{注④}します。
12. 50 μ l の滅菌水（または TE バッファー）に溶解し^{注⑤}、DNA 試料とします。

***注①～⑤については下記の「注解および留意点」をご参照ください。**

注解

注①柔らかい網や素手で水中からそっと取り出し、手早く行ってください。他の魚と混泳している場合には、コンタミネーションを防ぐため、きれいな水を用意して単独でしばらく泳がせるなどしてから採取してください。

注②必要に応じ、ペッスル等で軽くつぶしてください。

注③沈澱が流出しないようご注意ください。

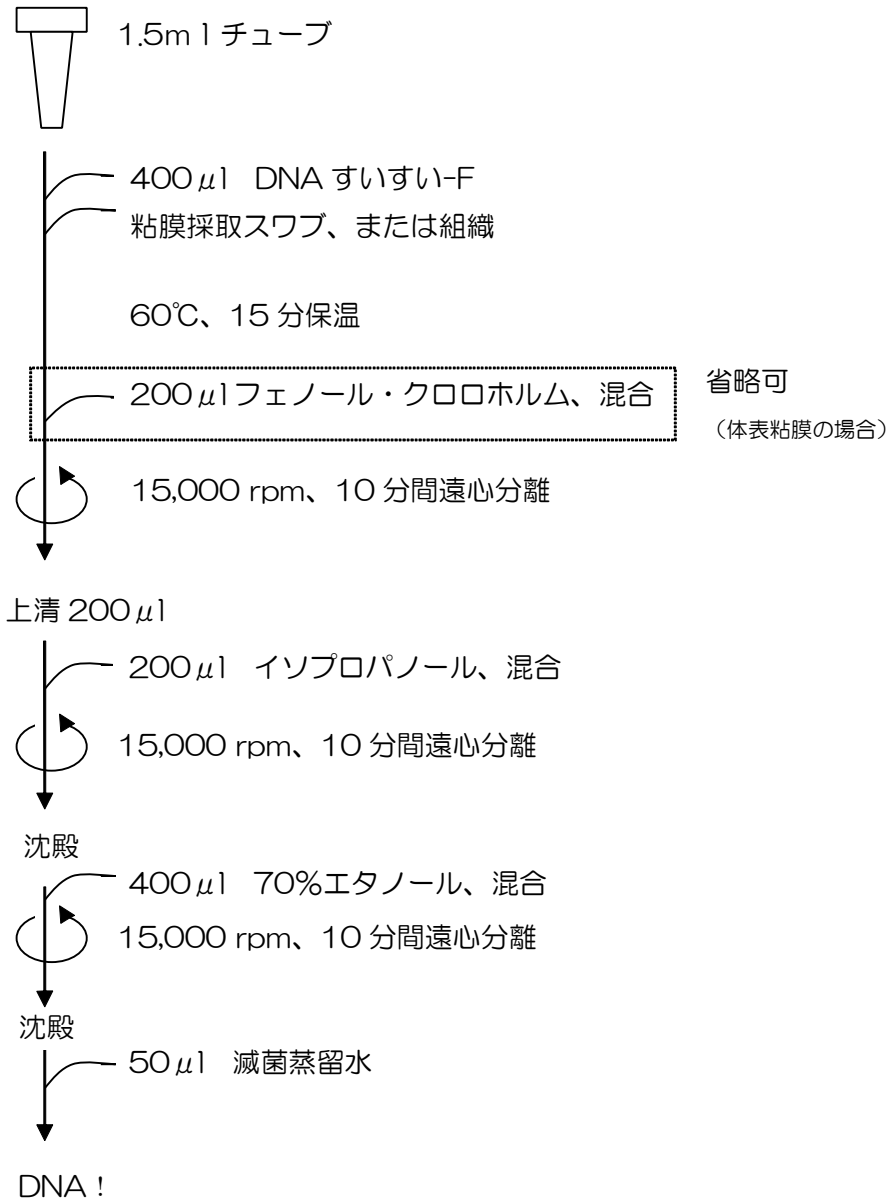
注④乾燥させすぎると水への溶解が困難になります。

注⑤試料の種類や状態、また使用目的により最適量が異なりますので、適宜調整して下さい。

留意点

本プロトコー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が、多量のサンプル向けにスケールアップすることも可能です。

DNA 抽出プロトコール フローチャート



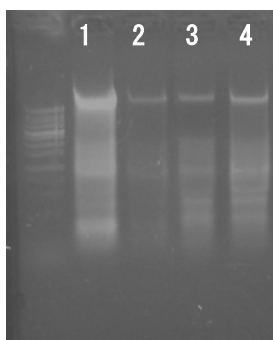
トラブルシューティング

問題	考えられる原因	対策
DNA の収量が低い。	試料の採取が不十分である。	体表粘膜がスワブ全体にからまる程度に採取してください。
	試料が本品に触れる前に DNA が分解している。	採取したスワブはすぐに DNA すいすい-F に浸してください。分析試料が組織の場合には、保存方法により DNA が分解する場合がありますのでご注意ください。
夾雑物の混入が多い	試料の量が多すぎる。	試料の量を 1～10mg 程度に減らして抽出してください。
	タンパク質が非常に多いサンプルである。	得られた DNA にタンパク質が多く含まれる場合には、DNA 溶液を本品で 400 μ l に増量し、ステップ 5 以降を行ってください。

本製品を用いた抽出例

① 淡水魚（金魚）の体表粘膜および組織からのDNA抽出例

本製品を使用して金魚の体表粘膜およびエラ、腎臓、骨格筋よりDNA抽出を行いました。



1：金魚（体表粘膜）

2：金魚（エラ）

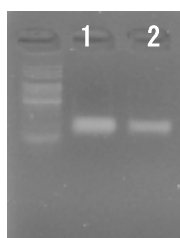
3：金魚（腎臓）

4：金魚（骨格筋）

体表粘膜はスワブ1個分、各組織は20mgからプロトコルに従って抽出し、5 μ lを泳動しました。

② 淡水魚（金魚）の体表粘膜およびヒレを用いた抽出とPCR増幅

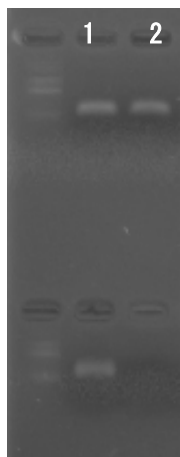
本製品を使用して金魚の体表粘膜およびヒレ（ハラヒレ、約2mg）よりDNA抽出を行い、抽出されたDNAを鋳型としてPCRを行いました。プライマーは淡水魚18SリボゾーマルRNA遺伝子上に設計したもの（増幅断片長151bp）を用いました。



（鋳型）

1：金魚（体表粘膜） 抽出DNA 1 μ l

2：金魚（ヒレ） 抽出DNA 1 μ l



さらに10倍、100倍に希釈したもの1 μ lを鋳型として用いてPCRを行いました。

上段1：金魚（体表粘膜） 抽出DNA10倍希釈 1 μ l

上段2：金魚（ヒレ） 抽出DNA10倍希釈 1 μ l

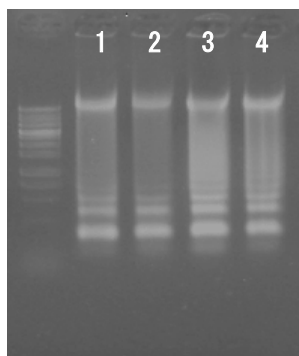
下段1：金魚（体表粘膜） 抽出DNA100倍希釈 1 μ l

下段2：金魚（ヒレ） 抽出DNA100倍希釈 1 μ l

体表粘膜からはPCR5000回分以上、ヒレからは500回分以上のDNAが抽出されていることが確認できました。

③サンプリング後の「一時保存液」としての利用

淡水魚（金魚）の粘膜を採取したスワブを本品とともに 1.5ml チューブに入れて蓋をし、常温（25℃～30℃）と 4℃で 4 日間、11 日間置いた後に DNA 抽出を行いました。



1：常温 4 日後

2：常温 11 日後

3：冷蔵 4 日後

4：冷蔵 11 日後

プロトコルに従って DNA 抽出し、5 μ l を泳動しました。

常温で 11 日間放置後も、DNA は分解せず良好に抽出できました。

フィールドワーク時など、すぐに DNA 抽出を行えない場合に、本品を一時的なサンプル保存液としてご利用いただけます。

【広告】 関連製品のご案内

【RNA 抽出バッファー】

魚類の体表粘膜スワブ・組織からの RNA 抽出に

RNA すいすい-F RS-0005 21ml (50 回分) 31,500 円 (税込)

【DNA 多型解析に】

多型探索・アレル特異的 PCR マーカー作成サービス

すにっぴすいすい SNPs-1 1 件 63,000 円 (税込)

お問い合わせ先

株式会社リーゾ

研究部

茨城県つくば市天久保 2-9-2-B201

電話 ; 029-852-9351 FAX ; 020-4623-5611

E-mail ; info@rizo.co.jp

ホームページ ; <http://rizo.co.jp/>

担当 ; 門奈

Copyright ©2010 RIZO Inc. All Right Reserved.