



DNA すいすい -PF

DS-0007

～DNA 簡易抽出バッファー～

加工食品向け

取扱説明書

Ver. 1.0

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
DNA 抽出プロトコール フローチャート	6
注解および留意点	7
トラブルシューティング	8
実験例	9
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品は、加工食品中の特定材料検査に最適のDNA簡易抽出バッファ―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― 85 mL (約 140 回分)

保存条件

冷蔵保存 (4℃) して下さい。使用期限は開封後、1 年間です。

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

フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）*

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

*フェノールをトリスバッファー（pH 8.0）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。

**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ご利用ください。

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

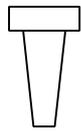
ピペットチップ

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}で均質化し、試料 25~50 mg^{注②}を新しい1.5 ml チューブに入れます。
2. 本試薬を 600 μ l 入れ、ボルテックス等で約 1 分間懸濁します。
3. フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）を 600 μ l 加え、転倒混和します。
4. 15,000 rpm、室温（20~25℃）で 10 分間遠心分離を行います。
5. 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。
6. 15,000 rpm、室温（20~25℃）で 10 分間遠心分離を行います。
7. 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。
8. 15,000 rpm、室温（20~25℃）で 10 分間遠心分離を行います。
9. 上清を捨て、沈澱を乾燥（風乾）^{注④}します。
10. 50 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6ページの「注解および留意点」をご参照ください。**

DNA 抽出プロトコール フローチャート



1.5 ml チューブに試料を入れる (25~50 mg)

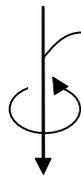
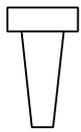


600 μ l の本試薬と混合、1 分間、ボルテックス

600 μ l のフェノール：クロロホルム (1 : 1、v/v) と混合

15,000 rpm、10 分間遠心分離 (室温 ; 20-25°C)

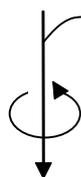
上清 200 μ l を新しい 1.5 ml チューブに入れる



200 μ l のイソプロパノールを混合

15,000 rpm、10 分間遠心分離 (室温)

上清を捨てる



800 μ l の 70% エタノールを入れ、沈澱を洗浄

15,000 rpm、10 分間遠心分離 (室温)

上清を捨てる



DNA !

注解

注①分析試料は十分な均質化操作を行ってからご使用下さい。

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、以下の操作をご検討下さい。

上記プロトコール「4」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、上記プロトコール「5」以降の操作を引き続き行ってください。

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。

トラブルシューティング

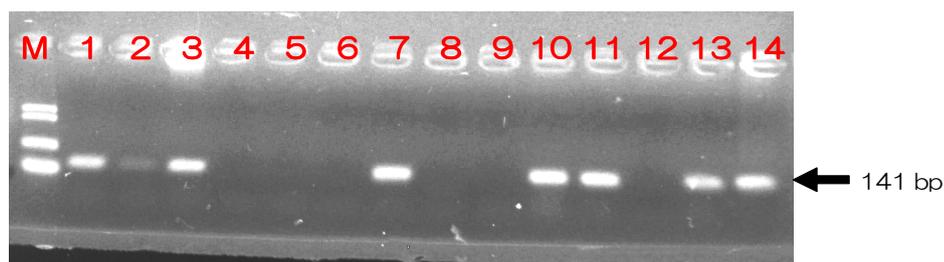
問題	考えられる原因	対策
DNA の収量が低い。	試料の粉碎が不十分である可能性が考えられます。	できるだけ試料を細かく粉碎・均質化して下さい。
	試料から本製品（抽出バッファ）への DNA 抽出が不十分である可能性が考えられます。	試料に本製品を添加した後、ボルテックス等でよく懸濁してから遠心分離を行ってください。
イソプロパノール添加後に多量の白色沈澱が生じ、70%エタノールによる洗浄後も残存している。	分析試料に多量のタンパク質や脂質が含まれている可能性が考えられます。	DNA 抽出プロトコルの「4」の後に上清と等量のフェノール・クロロホルム・イソアミルアルコール（SIGMA 社製 Cat. No. P2069 など）を再度加え、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「5」以降の操作を引き続き行ってください。

実験例 加工食品中の特定原料「小麦」の PCR 法による検出

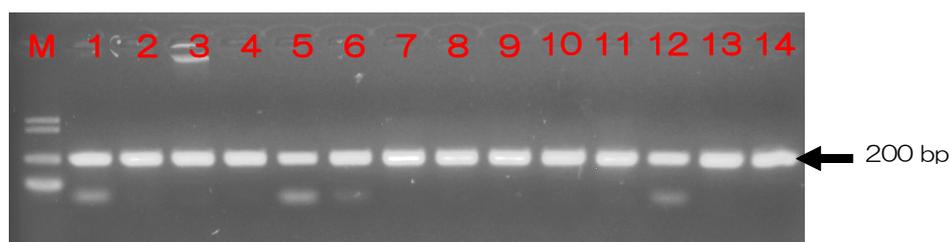
本製品を使用して DNA 簡易抽出を行い、厚生労働省通知法記載の小麦 DNA 検出用プライマー対（141 bp が増幅）を使用して PCR を行いました。比較対照に 18S rRNA 遺伝子検出用プライマー対*（200 bp が増幅）を使用して PCR を行いました。

*植物全般のゲノム DNA を増幅するプライマーです。
配列についてはお問い合わせください。

小麦 DNA 検出用プライマー



18S rRNA 遺伝子検出用プライマー



3% Agarose

M: Marker (上から : 500 bp、400 bp、200 bp、100 bp)

- | | |
|--------------|--------------|
| 1. 天ぷら揚げ玉 | 8. 白麹味噌 |
| 2. おふ (乾燥) | 9. 高野豆腐 (乾燥) |
| 3. トルティーヤチップ | 10. パン粉 (乾燥) |
| 4. えびせん | 11. そば (乾燥) |
| 5. ソース | 12. ライスペーパー |
| 6. お好み焼きのもと | 13. パスタ (乾燥) |
| 7. 韓国唐辛子味噌 | 14. 稲庭うどん |

(PCR 反応系)

Buffer	1 ×
dNTPs	0.2 mM
MgCl ₂	2 mM
Primer	0.6 μM
DNA*	30 ng
Taq ポリメラーゼ**	0.6U

Total 15 μl

*DNA 抽出液を 20 ng/μl に調製したものを使用。

**TAKARA Ex Taq を使用

(PCR 条件)

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

DNA すいすい-PF

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/FAX ; 029-852-9351

E-mail ; rinfo@rizo.co.jp

ホームページ ; <http://www.rizo.co.jp/>

担当 ; 宮川

Copyright ©2009-2011 RIZO Inc. All Right Reserved.