



DNA すいすい-P

DS-0002N

～DNA 簡易抽出バッファー～

ポリフェノールの多い植物組織向け

取扱説明書

Ver. 1.1

RIZO Inc.

目次

	ページ
本製品の特長	2
内容物	2
保存条件と使用期限	2
使用上の注意	2
その他必要な機器・試薬	3
実験を開始する前の準備	4
分析試料からの DNA 抽出プロトコール	4-5
トラブルシューティング	6
実験例	7
お問い合わせ先	裏表紙

本製品の特長

本製品は、ポリフェノールの多い植物組織*からのDNA簡易抽出に最適な抽出バッファーです。精製カラムを使用しないため、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。

*サンプルの状態によっては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 (約230回分)

添加剤 2本

添加剤溶解液 10ml ×1本

保存条件と使用期限

保存条件 冷蔵保存(4℃)して下さい。

使用期限 添加剤溶解液を添加剤に混合してから1カ月*

(*溶解後の添加剤は、小分けして冷凍することで長期保存可能です)

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

イソプロパノール（特級）

フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）*

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

その他

1.5 ml チューブ

マイクロピペット（1,000 μ l用、200 μ l用）

ピペットチップ

実験を開始する前の準備

本製品に添付の添加剤溶解液（青ラベル）5ml を添加剤（赤ラベルの褐色ビン）に入れ、よく混合します*。

*調製後の添加剤は、使用期限が 1 カ月ですのでご注意ください。実験に使用するまで暗所で冷蔵保存（4℃）、もしくは小分けして冷凍保存してください。

分析試料からの DNA 抽出プロトコール

1. 新しい 1.5 ml チューブに、360 μ l の DNA すいすい-P と、上記調製済みの添加剤 40 μ l を入れた後^{注①②}、10~50 mg の分析試料を加えます^{注③}。
2. マイクロチューブ用ペッスルなど^{注④}で分析試料をホモジナイズします。
3. フェノール：クロロホルム（1：1、v/v）を 400 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 で 10 分間遠心分離を行います。
7. 上清を捨て^{注⑤}、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、4℃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⑥}します。
10. 50~100 μ l の TE もしくは滅菌水に溶解し^{注⑦}、PCR 反应用試料とします。

*注①~⑦については次ページの「注解」をご参照ください。

注解

注①調製した添加剤は使用直前に *DNA すいすい-P* に加え、試料数分ご準備下さい。 *DNA すいすい-P* に添加剤を加えた後、1 日以上経過したものはご使用にならないで下さい。

注②冷凍保存した組織の場合は、解凍しないうちに抽出バッファーへ浸漬して下さい。尚、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ので、ご注意ください。

注③分析試料によっては、抽出バッファーをプロトコールの約半分量にしてホモジナイズした方がより操作しやすい場合がございます。この場合、抽出バッファーの合計量 (*DNA すいすい-P* + 添加剤) が最終的に 400 μ l になるようホモジナイズ後に加え、転倒混和して下さい。

注④1,000 μ l 用ピペットチップの先を、アルコールランプやライター等で炙り、先端の穴が閉じたものなどを使用しても十分なホモジナイズが可能です。

注⑤沈澱が流出しないようご注意ください。

注⑥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⑦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。

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。

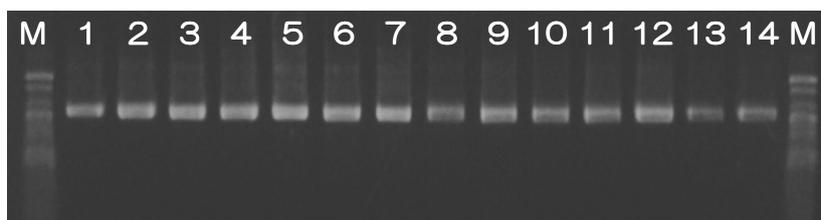
トラブルシューティング

問題	考えられる原因	対策
DNA の収量が低い。	試料のホモジナイズが不十分である可能性が考えられます。	試料をできるだけ丁寧にホモジナイズして下さい。
	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。	本製品と共に試料をホモジナイズした後、よく転倒混和を行ってから次の操作に移ってください。
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」および「4」の操作をさらに繰り返し、タンパク質や脂質の除去を行ってください。

実験例

ポリフェノールの多い植物組織を用いた実験

本製品を使用して DNA 簡易抽出を行い、18S rRNA 遺伝子検出用プライマー対 (1,131 bp が増幅) を使用して PCR を行いました。



1.5% Agarose

M: Marker (100 base pair ladder)

- 1 バジル (葉)
- 2 シソ (葉)
- 3 紫イネ (葉)
- 4 トマト (葉)
- 5 リンゴ果皮
- 6 ナシ果皮
- 7 ナス果皮
- 8 レンコン (皮)
- 9 ローズマリー (葉)
- 10 ラベンダー (葉)
- 11 ゴールドクレスト (葉)
- 12 イチョウ (葉)
- 13 緑茶
- 14 黒米 (2 粒から抽出)

(果皮は 100 mg、その他サンプルは約 50 mg の組織から DNA 抽出を行いました。)

(PCR 反応系)

Template DNA*	1~6 (μ l)
10×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 2~50 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 35 sec. }
55°C 30 sec. } 35 cycles
72°C 75 sec. }
72°C 7 min.

【広告】 姉妹品のご案内

弊社では以下の商品も好評販売中です。
皆様のご研究にお役立て下さい。

デンプンの多いサンプルに

■ 「DNA すいすい-S」
DS-0001N 420回分
米（玄米、精米）、麦・粟・ヒエ・
豆・その他の穀類、イモ類、炊飯米、
粉類など

粘性物質の多いその他の農産物・加
工品などに

■ 「DNA すいすい-VS」
DS-0004 110回分
ネギ、メカブ、ナメコ、納豆、ラン
（葉・花卉）

粘性物質の多いバラ科植物葉などに

■ 「DNA すいすい-R」
DS-0003N 110回分
リンゴ、ナシ、モモ、イチゴなどの
葉・花卉・果実

土壌・活性汚泥等の環境材料に

■ 「DNA すいすい-E」
DS-0008 100回分
火山灰や腐葉土を含む土壌、活性汚泥
など

脂質の多い植物種子に

■ 「DNA すいすい-L」
DS-0006 180回分
ピーナッツ、アーモンド、大豆、ク
ルミ、カシューナッツなど

木材・乾燥した植物組織に

■ 「DNA すいすい-W」
DS-0009 110回分
木材・竹製品、ワラ、イグサ、籾殻
など

加工食品に

■ 「DNA すいすい-PF」
DS-0007 140回分
天ぷら揚げ玉、トルティーヤチップ、
韓国味噌、みそ、こうや豆腐、パス
タ、そば、うどんなど

魚類体表粘膜・組織に

■ 「DNA すいすい-F」
DS-0005 210回分
各種粘膜・組織、唾液、肉類、水産
乾物など

RNA 抽出バッファー「RNA すいすい」シリーズ

デンプンの多いサンプルに

■ 「RNA すいすい-S」
RS-0001N 210回分
イネ、ムギ、マメなど穀類の胚乳
（未熟・完熟）、イモ類などの栄養
組織、根

粘性物質の多いバラ科植物葉などに

■ 「RNA すいすい-R」
RS-0003N 150回分
リンゴ、ナシ、モモ、イチゴ・桜な
どの葉・花卉・果実、キクなどの花
弁、ネギ、サトイモ

ポリフェノールの多いサンプルに

■ 「RNA すいすい-P」
RS-0002N 170回分
ハーブ、アシタバ、紫稻の葉、黒米、
ゴボウ、レンコンなど

魚類体表粘膜・組織などに

■ 「RNA すいすい-F」
RS-0005 50回分
体表粘膜細胞、体表寄生微生物の遺
伝子発現研究など

DNA すいすい-P

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/>

Copyright ©2011 RIZO Inc. All Right Reserved.