

## カネカ 簡易DNA抽出キット(植物用)

## 取扱説明書

## ⚠ 注意

- 本品は研究用です。ヒト、動物への医療、臨床診断に使用しないでください。また、食品、化粧品、家庭用品などとしても使用しないでください。
- 本品はアルカリ性の試薬を使用しております。本品の使用、廃棄にあたっては、保護具(保護手袋、保護メガネなど)着用や、皮膚に付着した場合はよく水洗するなど、実験室での一般の注意事項を厳守し安全に留意してください。

## 特徴 / 用途

- 本品は、従来法より簡便な操作で、PCRやリアルタイムPCRなどの核酸増幅法に利用可能な鋳型DNAを約10分にて生体試料から簡易抽出するためのキットです。本品は特に植物検体(葉、種子など)からのDNA抽出に適しております。

## 製 品

内容物 (100テスト分)		
試薬 A ※	10 ml	1 本
試薬 B	1.4 ml	1 本

※試薬Aはアルカリ性の試薬となっておりますので、取り扱い時は保護具を着用し、飛散に十分ご注意ください。

※本品は、出荷前検査において、コムギ種子を検体として核酸を抽出し、PCRにより増幅断片が検出されることを確認しています。

## 保存方法 / 使用期限

- 保存方法 直射日光を避け室温で保存してください。
- 使用期限 本品ラベルに記載しております。

## 使用方法

## ■標準プロトコール

(葉の場合)

1. 5~8 mm角に切断した検体をPCRチューブへ加え、試薬Aを100 µl添加し、ピペティングにより、よく攪拌する。  
※適切なサイズは検体の種類や状態によって異なります。
2. 溶液中の検体をホモジナイズ(ピペットチップの先端で突くなど)する。
3. PCRチューブをヒートブロックなどにて98℃、10分間インキュベートする。  
※インキュベーション時はPCRチューブの内圧が上がり、蓋が開き内容物が飛散する恐れがありますので、キャップロックなどで蓋をロックしてください。また、PCRチューブが十分冷めてから蓋を開けるようにしてください。
4. PCRチューブが冷めた後、試薬Bを14 µl添加し、よく攪拌する。
5. 上記4で得られた抽出液を使用前によく攪拌し、1~5 µlを鋳型DNAとしてPCRに供する(50 µl PCR反応系の場合)。  
※抽出液に多量の沈殿物が含まれる場合は、4℃、5000 rpmにて5分間遠心し、上清を鋳型DNAとして用いることを推奨します。

# カネカ 簡易DNA抽出キット(植物用)

## (種子の場合)

1. ハサミなどで5~8 mm角に切断した種子片をPCRチューブへ加え、試薬Aを100  $\mu$ l添加し、ピペッティングにより、よく攪拌する。  
※適切なサイズは検体の種類や状態によって異なります。
2. PCRチューブをヒートブロックなどにて98  $^{\circ}$ C、10分間インキュベートする。  
※インキュベーション時はPCRチューブの内圧が上がり、蓋が開き内容物が飛散する恐れがありますので、キャップロックなどで蓋をロックしてください。また、PCRチューブが十分冷めてから蓋を開けるようにしてください。
3. PCRチューブが冷めた後、試薬Bを14  $\mu$ l添加し、よく攪拌する。
4. 上記3で得られた抽出液を使用前によく攪拌し、1~5  $\mu$ lを鋳型DNAとしてPCRに供する(50  $\mu$ l PCR反応系の場合)。  
※抽出液に多量の沈殿物が含まれる場合は、4  $^{\circ}$ C、5000 rpmにて5分間遠心し、上清を鋳型DNAとして用いることを推奨します。

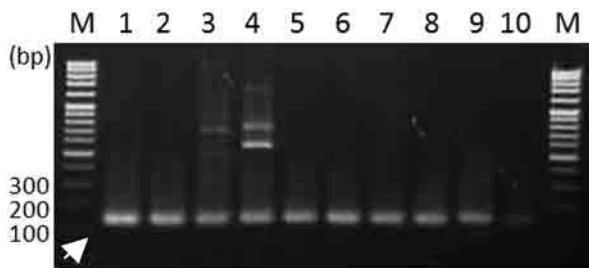
【PCRには、夾雑物を含む抽出液からの核酸増幅に適した、カネカ 高速増幅用 DNA Polymerase (製品コードKN-T120001) を推奨いたします。その他のPCRキットをご使用いただくと、増幅反応の効率が低下する場合がございます。】

## 使用例

### ■各植物検体からの核酸抽出結果(PCR)

各植物検体から本品を用いDNAを抽出した。抽出液を鋳型DNAとし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymeraseを用いてT3000 Thermocycler(Biometra社製)にてPCRを実施し、鋳型DNA特異的な核酸増幅を確認した。

温度	時間	サイクル
94 $^{\circ}$ C	1分	30 サイクル
94 $^{\circ}$ C	15秒	
60 $^{\circ}$ C	10秒	
72 $^{\circ}$ C	30秒	

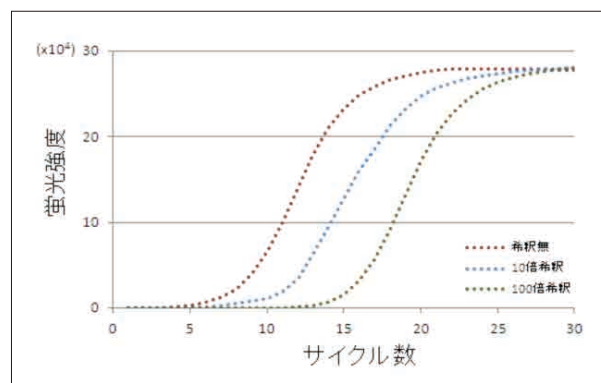


1. トマト 種子
  2. ラン 葉
  3. コムギ 種子
  4. トウモロコシ 種子
  5. スイカ 種子
  6. ピーナッツ 種子
  7. ソバ 種子
  8. リンゴ 種子
  9. ミカン 種子
  10. バナナ 果肉
- 植物用ユニバーサルプライマー  
>CP03-forward  
CGGACGAGAATAAAGATAGAGT  
>CP03-reverse  
TTTTGGGGATAGAGGGACTTGA

### ■コムギ種子からの核酸抽出結果(リアルタイムPCR)

コムギ種子から本品を用い、DNAを抽出した。抽出液を鋳型DNAとし、カネカ 高速増幅用 DNA Polymeraseを用いてApplied Biosystems 7300リアルタイムPCRシステム(Life Technologies社製)にてリアルタイムPCRを実施し、コムギDNAの増幅に由来する蛍光強度の増加が確認した。蛍光標識剤としてはSYBR<sup>®</sup>GreenI (Sigma社製)を用いた。

温度	時間	サイクル
94 $^{\circ}$ C	1分	30 サイクル
94 $^{\circ}$ C	15秒	
60 $^{\circ}$ C	10秒	
72 $^{\circ}$ C	30秒	



# カネカ 簡易DNA抽出キット(植物用)

## 保証

■弊社の責任の範囲は、本品自体に不具合があった場合の代替品への交換のみに限られ、直接・間接を問わずその他一切の損害について弊社はその責に任じません。あらかじめご了承ください。

## 廃棄方法

本品の取扱いの際は必ず保護具(保護手袋や保護メガネなど)を着用してください。

- 残余廃棄物 少量であればペーパータオルやウエスに吸収させて焼却処分する。
- 汚染容器及び包装 空容器を廃棄する場合、内容物を完全に除去した後に処分する。

## 使用上の注意

- 標準プロトコールにてゲノムDNAが抽出されない場合は、以下の操作を行うことで改善されることがあります。
  - ・植物検体量を変更する。
  - ・98℃でのインキュベート時間を延長する(最大で5分間)。
  - ・植物検体を細かく切断する。
- 試薬Aはアルカリ性の溶液となっておりますので、取り扱い時は保護具を着用し、飛散に十分ご注意ください。
- 抽出液をすぐに使用しない場合は-20℃にて保存してください。
- インキュベーション時はPCRチューブの内圧が上がり、蓋が開き内容物が飛散する恐れがありますので、キャップロックなどで蓋をロックしてください。また、PCRチューブが十分冷めてから蓋を開けるようにしてください。

お問い合わせ先

カガクで  
ネガイを  
カナエル会社

株式会社カネカ メディカルデバイス開発研究所  
〒676-8688 兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8  
TEL 079-445-2406 FAX 079-445-2459  
お問い合わせ受付時間：平日9:00～17:00  
URL <http://www.kaneka-labtest.com>