

## カネカ 簡易DNA抽出キット version 2

## 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、眼に入った場合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。
- 誤って眼に入った場合や皮膚に付着した場合は、よく水洗いするなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当などを受けて下さい。

## 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鑄型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。

内容物 (血液からの抽出の場合：250テスト分、その他の検体の場合：50テスト分)		
試薬 A	5 ml	1 本
試薬 B	0.7 ml	1 本

## 性能・品質

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** 本品外袋に記載しております。

## 使用方法

## ■標準プロトコール

(植物)

1. 5～8 mm四方に切断した葉やホモジナイザーで破碎した種子片<sup>注1)</sup>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。
2. PCRチューブをヒートブロックなどにて98 °C、8分間インキュベートする<sup>注2)</sup>。
3. 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。
4. 上記3で得られた抽出液を使用前によく攪拌し<sup>注3)</sup>、1～5 µlを鑄型DNAとしてPCRに供する(50 µl PCR反応系の場合)<sup>注4)</sup>。

## 使用例

### ■植物種子からの核酸抽出結果(PCR)

植物検体<sup>注5)</sup>から本品を用いて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(図中の四角枠内)を確認した。

注5) トマト種子、ラン葉、コムギ種子、トウモロコシ種子、スイカ種子、ピーナッツ種子、ソバ種子、リンゴ種子、ミカン種子、バナナ果肉

PCRサーマルサイクラー設定条件

温度	時間	サイクル
94 °C	1分	
94 °C	15秒	30サイクル
60 °C	10秒	
72 °C	30秒	

M. DNAマーカー

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

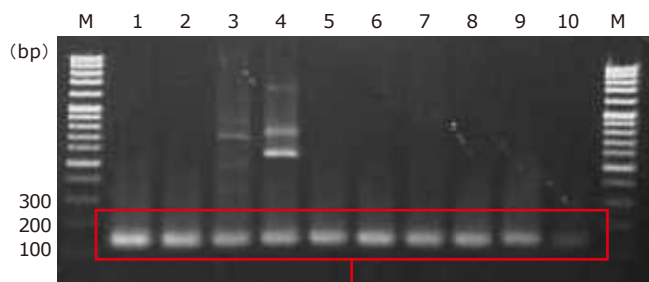
植物用ユニバーサルプライマー

>CP03-f

CGGACGAGAATAAAGATAGAGT

>CP03-r

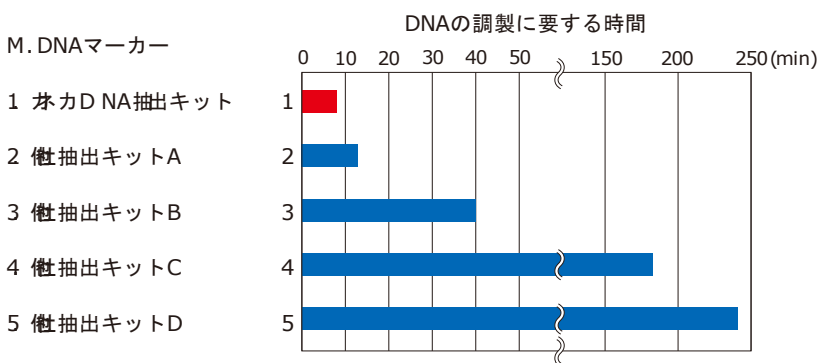
TTTTGGGGATAGAGGGACTTGA



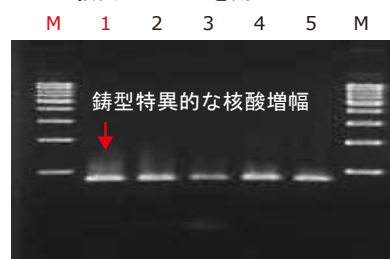
鋳型(ターゲット植物に共通して存在する遺伝子)に特異的な核酸増幅

### ■マウス血液からの核酸抽出結果(PCR)

マウス血液から本品を用いて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 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice®Touch (タカラバイオ社製)にてPCRを実施し、鋳型DNA特異的な核酸増幅(図中の矢印部分)を確認した。

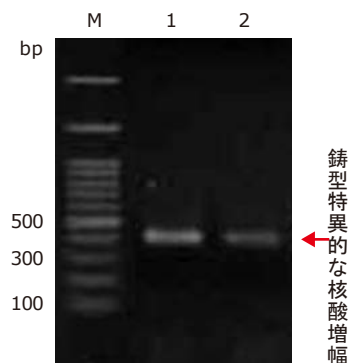


抽出したDNAを用いたPCR



### ■マウステールからの核酸抽出結果(PCR)

マウステールから本品を用い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TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice®Touch (タカラバイオ社製)にてPCRを実施し、鋳型DNA特異的な核酸増幅(図中の矢印部分)を確認した。



M. DNAマーカー

1 カネカ DNA抽出キット

2 抽出キットE

# カネカ 簡易DNA抽出キット version 2

## (血液)

1. 抗凝固剤(ヘパリン、EDTAなど)を添加した13  $\mu$ l血液<sup>注1)</sup>をPCRチューブへ加え、試薬Aを20  $\mu$ l添加し、ピペッティングにより、よく攪拌する<sup>注2)</sup>。
2. PCRチューブをヒートブロックなどにて98  $^{\circ}$ C、8分間インキュベートする。
3. PCRチューブが冷めた後、試薬Bを3  $\mu$ 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<sup>注3)</sup>、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)<sup>注4)</sup>。

## (動物組織-マウステール)

1. 5~ 8 mmに切断したマウステール<sup>注1)</sup>をPCRチューブに加え、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。
2. PCRチューブをヒートブロックなどにて98  $^{\circ}$ C、8分間インキュベートする<sup>注2)</sup>。
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<sup>注3)</sup>、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)<sup>注4)</sup>。

## (糞便)

1. 糞便<sup>注1)</sup>を100  $\mu$ lの滅菌水に懸濁する。
2. 10  $\mu$ lの糞便懸濁液をPCRチューブに加え、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。
3. PCRチューブをヒートブロックなどにて98  $^{\circ}$ C、8分間インキュベートする<sup>注2)</sup>。
4. 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。
5. 上記4で得られた抽出液を使用前によく攪拌し<sup>注3)</sup>、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)<sup>注4)</sup>。

## (培養細胞/微生物)

1. 細胞懸濁液<sup>注1)</sup>を、 $10^3$ ~  $10^5$ 個程度となるようにPCRチューブへ加え、遠心し上清を除去する。 $10^3$ ~  $10^5$ 個程度の細胞ペレットに、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。
2. PCRチューブをヒートブロックなどにて98  $^{\circ}$ C、8分間インキュベートする<sup>注2)</sup>。
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<sup>注3)</sup>、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)<sup>注4)</sup>。

注1)適切な検体量は検体の種類や状態によって異なります。

注2)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。

注3)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。

注4)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キットをご使用されますと、増幅反応の効率が低下する場合がございます。

## 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

1. 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)を着用し、実験室での一般の注意事項を厳守したうえで、安全に留意して行って下さい。誤って眼に入った場合や皮膚に付着した場合は、よく水洗いするなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当などを受けて下さい。
2. 標準プロトコールにてDNAが抽出されない場合は、以下の操作によって改善されることがあります。
  - ・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(延長時間は最大で5分間まで)。
  - ・検体を細かく切断または粉碎する。
3. 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。

## 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  
Medical Devices Solutions Vehicle 事業統括グループ 新規事業チーム  
〒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>