

取 扱 説 明 書

分子生物学用

セルイーズ[®] マウステール CellEase[®] Mouse Tail

1. はじめに

セルイーズ[®] マウステール(以下、セルイーズ[®] MT)は、マウス尻尾等の生体試料からゲノム DNA を効率よく抽出するための試薬です。本試薬と試料を混合した後、インキュベートするだけの簡単な操作で、PCR 反応に使用可能なテンプレート DNA が調製できます。

2. 製品形態

製品名	セルイーズ [®] マウステール (CellEase [®] Mouse Tail)
製品番号	08274-96
容量	50 回分
保管温度	2 - 8 °C

3. キットの構成

品名	容量・本数
試薬 A 液	3.0 ml × 1
試薬 B 液	0.6 ml × 1
取扱説明書	1 部

4. 原理

セルイーズ[®] MT の試薬 A 液には、生体膜を速やかに可溶化する働きと、抽出されたゲノム DNA を安定に保つ働きがあります。また試薬 B には細胞の成分を効率良く分解する働きがあります。試薬 A 液および B 液を作用させることで、細胞から短時間で効率良くゲノム DNA を抽出することができます。本製品には PCR 反応を阻害するような成分は含まれておらず、また生体由来の PCR 阻害物質の作用を抑制する働きがあるため、本試薬で抽出したゲノム DNA は、PCR 反応にそのまま使用可能です。なお、本製品は消防法による危険物、毒物及び劇物取締法等に該当する有害な化合物を含んでおりません。

5. 適用範囲

マウス尻尾をはじめとする各種動物組織、パラフィン包埋組織切片、食肉(牛肉、豚肉)等。

6. 試薬の準備

使用する前に試薬 A および試薬 B を静かに転倒混和して下さい。次に、試薬 A、試薬 B、滅菌水を表 1 に従い 5:1:5 の比率で混合し、セルイーズ[®] MT 混合液を調製して下さい。セルイーズ[®] MT 混合液を直ちに使用できない場合は、冷蔵にて保管して下さい。セルイーズ[®] MT 混合液は、長期保存できませんので、使用前に調製して下さい。

表 1. セルイーズ[®] MT 混合液の調製例

検体数	試薬 A (μl)	試薬 B (μl)	滅菌水 (μl)
1	50	10	50
5	250	50	250
10	500	100	500
50	2,500	500	2,500

7. 標準プロトコール (PCR 試料作製)

- 1) 適当なサイズに切断した試料を、マイクロチューブに入れる(対象により至適な試料量は異なります)。
- 2) 先に調製したセルイーズ[®] MT 混合液をマイクロチューブに添加し、スピンドウンする。
- 3) 37°C で 6 分間インキュベートする。
- 4) 95°C で 3 分間インキュベートする。
- 5) 滅菌水 200 μl を加え、ピペットで緩やかに混和する。
- 6) 上清(DNA 抽出液)をテンプレート DNA とする。

8. 使用上の注意事項

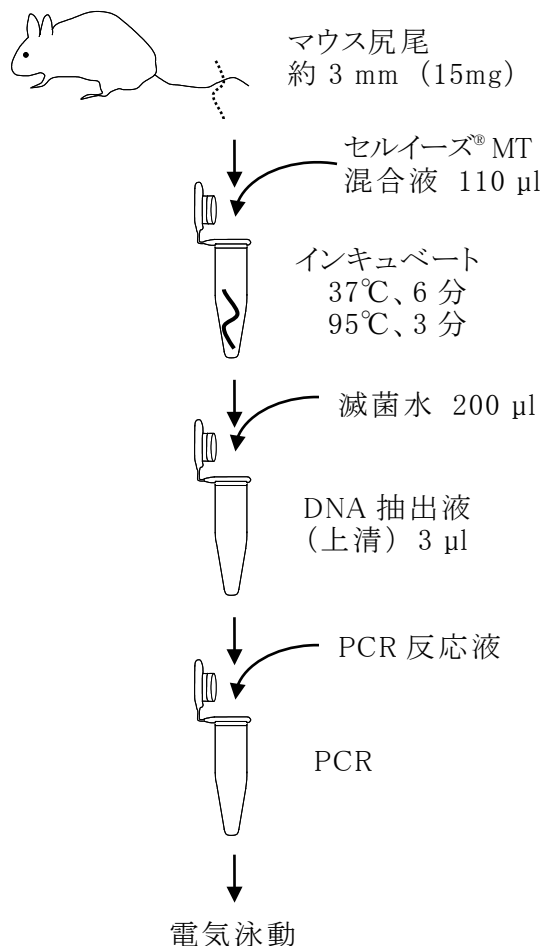
- 1) 試料には表皮、毛、骨等を多量に含まないものをご使用下さい。
- 2) 試薬量に対して試料が過剰の場合、夾雑成分により PCR 反応を阻害する場合があります。この場合、DNA 抽出液を適宜希釈していただくことで、PCR 反応が改善することがあります。
- 3) 少量の試料でゲノム DNA 抽出を行う場合は、添加するセルイーズ[®] MT 混合液を適宜減量して下さい。
- 4) 標準プロトコールにてゲノム DNA が抽出されない場合は、インキュベート時間を延長するか、インキュベート温度を高める(72°C 以下)ことで改善されることがあります。
- 5) セルイーズ[®] MT 混合液は、必ず所定の比率で調製してご使用下さい。
- 6) PCR 反応に供する DNA 抽出液は、総液量の 10% 以下として下さい。
- 7) DNA 抽出液に不溶物が含まれる場合は、遠心分離した上清をご使用下さい。
- 8) DNA 抽出液は使用まで冷蔵で保存し、早めにご使用下さい。また、直ちに使用しない場合は、冷凍(-20°C)にて保管して下さい。
- 9) 本製品は試験研究用としてご使用下さい。研究目的以外の用途には使用しないで下さい。

9. 技術供与

セルイーズ[®] は、Biocosm(株)の登録商標です。また、本製品は、Biocosm(株)から技術供与を受けております。

取 扱 説 明 書

分子生物学用

セルイーズ[®] マウステール CellEase[®] Mouse Tailセルイーズ[®] MTを用いたマウス尻尾からの DNA 抽出と PCR による β -globin 遺伝子の増幅例

- 試薬A、試薬B、滅菌水を5:1:5の比率で混合し、セルイーズ[®] MT混合液を調製した。
- 3 mmのマウス尻尾をマイクロチューブに入れた。
- セルイーズ[®] MT混合液を1検体あたり110 µlを加え、さらにスピンドウンした。
- ヒートブロックを使用して、インキュベートした。

- マイクロチューブに滅菌水 200 µlを添加し、ピペットで混和した後、この上清をDNA抽出液とした。
- DNA抽出液を滅菌水で希釈し、原液、希釈液(10倍、100倍)をテンプレートDNAとして、PCR反応を行った。

PCR反応液組成:

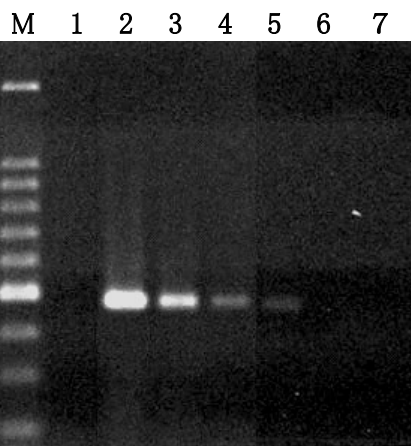
テンプレートDNA	3.0 µl
10× <i>TaKaRa Ex Taq</i> [™] (5 unit/µl)	0.25 µl
10× <i>Ex Taq</i> [™] Buffer (Mg ²⁺ free)	5.0 µl
MgCl ₂ (25 mM)	4.0 µl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4.0 µl
Primer-Forward (10 pmol/µl)	1.0 µl
Primer-Reverse (10 pmol/µl)	1.0 µl
滅菌水	31.75 µl
合計	50.0 µl

反応条件:

94°C 1分 → (94°C 30秒, 60°C 30秒, 72°C 30秒) × 35回 → 72°C 4分

電気泳動条件:

1.5% TBEアガロースで泳動後、臭化エチジウム溶液に30分間浸し、トランスイルミネーターでバンドを検出した。



M 分子量マーカー (100 bp Ladder)

1. テンプレートDNAなし(セルイーズ[®] MT混合液のみ)
2. セルイーズ[®] MTによるDNA抽出液 (原液)
3. " (10倍希釈液)
4. " (100倍希釈液)
5. 水によるDNA抽出液 (原液)
6. " (10倍希釈液)
7. " (100倍希釈液)

Primer : Mouse β -globin 遺伝子 (494 bp)参考文献: Konkel DA, et al. (1978). *Cell* 15, 1125-1132.

マウス尻尾以外のアプリケーションについては、弊社までお問合せ下さい。