取 扱 説 明 書 シカジーニアス® DNAプレップキット(植物用)
Cica Geneus® DNA Prep Kit (for Plant)

1. はじめに
本製品は、様々な植物組織サンプルから簡便に DNA を精製するためのキットです。本製品は、植物組織に最適化したバッファーシステムとシリカベースのメンブレンのスピンカラムを組み合わせることで、わずか 40 分で代謝物を効率的に除去することができます。精製された DNA は PCR や Real-time PCR、サザンブロッティングなど、様々な実験に使用可能です。

2. 製品形態

製品名	シカジーニアス® DNA プレップキット(植物用) (Cica Geneus® DNA Prep Kit (for Plant))
製品番号	08089-96
容量	100 回分
保管温度	室温 (15 ℃～25 ℃)

3. 構成試薬 (100 回)

個別名称	容量	用途
EzSep Filter (カラム:青色) (コレクションチューブ付)	10 個×10	サンプルろ過
SV Column type G (カラム:黄緑色) (コレクションチューブ付)	10 個×10	核酸結合
①Buffer PL	100 mL×1	植物組織溶解
②Buffer PD	30 mL×1	カラム洗浄
③Buffer BD ※1	37 mL×1	DNA 結合促進
④Buffer CW ※2	30 mL×1	カラム洗浄
⑤Buffer AE	60 mL×1	DNA 溶出
⑥RNase A (100 mg/mL) ※3	480 μL×1	RNA 分解

4. 製品仕様

製品タイプ	スピンカラム
最大サンプル量	100 mg(湿重量) 凍結乾燥組織 : 25 mg
カラムへの最大ローディング量	750 μL
最小溶出液	30 μL
カラムの最大 DNA 結合量	50 μg

5. 使用上の注意
①Buffer PL に沈殿が生じた場合には 65 ℃でインキュベートし、沈殿をよく溶かしてからご使用下さい。
本製品の試薬は、皮膚や眼、気道に対して有害な刺激物を含んでいます。本製品を扱う際は十分に注意し、手袋や保護メガネを着用して下さい。万が一試薬が付着した場合は、速やかに大量の水で洗い、医師の診察を受けて下さい。
③Buffer BD はカオトロピック塩を含んでいます。カオトロピック塩は漂白剤と混ざると反応性の高い化合物を生じる可能性があります。本製品に漂白剤や酸性溶液が混入しないように十分注意して下さい。

6. 必要な機器類
100 %エタノール、2 mL チューブ用遠心機、マイクロピペット、マイクロピペット用チップ、ウォーターバス、マイクロホモジナイザー、1.5 mL チューブ、乳棒、乳鉢、ボルテックスミキサー

7. プロトコール
【重要】 実験を始める前の注意事項
※1:③Buffer BD は、初回使用前にエタノール(分子生物学用)(別売)を 73 mL 加え、合計 110 mL としてからご使用下さい。
※2:④Buffer CW は、初回使用前にエタノール(分子生物学用)(別売)を 120 mL 加え、合計 150 mL としてからご使用下さい。
※3:⑥RNase A は、より活性を維持するために-20 ℃～8 ℃で保管することを推奨します。

1) サンプル(湿重量 100 mg以下あるいは凍結乾燥組織 25 mg以下)を乳棒と乳鉢を用いて液体窒素を加え粉末状になるまで素早くすり潰します。その後、粉末状のサンプルを 1.5 mL チューブ(別売)に移し、400 μL の①Buffer PL と 4 μL の⑥RNase A を加えてボルテックスミキサーで撹拌します。
2) 65 ℃のウォーターバスで 10～15 分間インキュベートします。この間、2、3 回転倒混和またはボルテックスミキサーにて撹拌します。
3) 140 μL の②Buffer PD を加え、ボルテックスミキサーで撹拌をした後、氷上で 5 分間静置します。
*植物の種類によっては、②Buffer PD の添加後に粘性が高くなる可能性があります。その場合、5 分間 10,000×*g* 以上で遠心を行ない、ペレットを崩さないように注意しながら 4)に進んで下さい。
4) 3)の混合液をEzSep Filter(カラム: 青色)に移し、2 分間 10,000×*g* 以上で遠心します。
*この際、チューブの底にペレットが形成されるので、このペレットを崩さないように次の作業へ移行して下さい。
*上清に粘性がある場合、幅が広いチップや先端を切断したチップを使用して下さい。
5) ペレットを吸い込まないように注意しながら 4)のろ液を新しい 1.5 mL チューブ(別売)に移します。
6) 5)の液量に対して 1.5 倍量の③Buffer BD を加えすぐにピペッティングにより混和します。
7) 6)の混合液から 700 μL を SV Column type G(カラム: 黄緑色)に加え、30 秒間 10,000×*g* 以上で遠心します。ろ液を捨て、元のコレクションチューブに SV Column type G を再度セットします。
8) 6)の混合液がなくなるまで、7)の動作を繰り返します。
9) 700 μL の④Buffer CW を加え、30 秒間 10,000×*g* 以上で遠心を行なった後、ろ液を捨て、SV Column type G を元のコレクションチューブにセットします。
10) 300 μL の④Buffer CW を加え、2 分間 10,000×*g* 以上で遠心を行なった後、SV Column type G を新しい 1.5 mL チューブ(別売)にセットします。
11) SV Column type G のメンブレンの中心に 100 μL の⑤Buffer AE を加え、室温で 5 分間静置します。
12) 1 分間 10,000×*g* 以上で遠心し、ろ液(DNA 溶液)を回収します。
13) 11)、12)の作業をもう 1 回行ないます。この際、12)の DNA 溶液の濃度を希釈したくない場合は、SV Column type G を新しい 1.5 mL チューブ(別売)にセットした後、作業を行なって下さい。

◇本取扱説明書の補足資料として、本製品の操作方法を簡潔にまとめたプロトコールシートを当社 HP にて公開しております。こちらの資料もご活用下さい。

https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46_m_pdf/761/pdf1.pdf

関東化学株式会社 試薬事業本部 〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号 (03)6214-1090 https://www.kanto.co.jp

取 扱 説 明 書

シカジーニアス® DNAプレップキット（植物用）
Cica Geneus® DNA Prep Kit (for Plant)

8. トラブルシューティング

現象	考えられる原因	対策
DNA の回収量が少ない	サンプル量が多すぎる	サンプル量を減らし、正確なサンプル量で実験を始めて下さい。
	サンプルが適切に保存されていない	サンプルはフレッシュなものを使用して下さい。
	溶解が不十分	スタートサンプル量を減らして下さい。
	溶出バッファーが不適当	⑤Buffer AE 以外で溶出操作を行なう場合、低塩濃度・アルカリ（pH 7～9）の液体で溶出して下さい。
EzSep Filter が目詰まりする	ライセートの粘度が高すぎる	プロトコール 3)を参考に、追加で遠心を行なって下さい。
SV Column type G が目詰まりする	沈殿物の除去が不十分	プロトコール 5)で沈殿物を吸い込まないよう注意して下さい。
	ライセートの粘度が高すぎる	サンプル量を減らす、あるいは ① Buffer PL と ② Buffer PD の量を増やして下さい。
DNA が切断されている	ライセートの粘度が高すぎる	プロトコール 3)を参考に、追加で遠心を行なって下さい。
回収した核酸溶液を用いた実験がうまくいかない	核酸液の塩濃度が高い	プロトコール 10)を数回繰り返し、洗浄を十分に行なって下さい。
	エタノールの残存	微量のエタノールを除去するために、プロトコール 10)後、追加で遠心（1 分間 10,000 × g 以上）を行なって下さい。

9. その他

1) 本製品は試験研究用です。医療や臨床診断の目的には使用しないで下さい。
2) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、関係法令に従って処理して下さい。

T7631 2/2