

## 取扱説明書

シカジーニアス® DNAプレップキット(糞使用)  
Cica Geneus® DNA Prep Kit (for Stool)

## 1. はじめに

本製品は、糞便サンプルから簡単に DNA を精製するためのキットです。本製品は、糞便サンプル用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нкаラムを組み合わせることで、様々なアプリケーションに適用可能な精製 DNA を調製することができます。

## 2. 製品形態

|      |  |
|------|--|
| 製品名  | シカジーニアス® DNA プレップキット(糞使用)<br>(Cica Geneus® DNA Prep Kit (for Stool)) |
| 製品番号 | 08090-96   |
| 容量   | 50 回分  |
| 保管温度 | 室温 (15 °C ~ 25 °C)   |

## 3. 構成試薬 (50 回)

| 個別名称   | 容量        | 用途       |
|--|-----------|----------|
| EzPass Filter<br>(カラム:透明)<br>(コレクションチューブ付)     | 10 個 × 5  | サンプルろ過   |
| SV Column type G<br>(カラム:黄緑色)<br>(コレクションチューブ付) | 10 個 × 5  | 核酸結合     |
| 1.5 mL チューブ                                    | 50 個 × 2  | ろ液回収     |
| 2.0 mL チューブ                                    | 50 個 × 2  | サンプル回収   |
| ①Buffer PBS                                    | 60 mL × 1 | サンプル溶解   |
| ②Buffer FL                                     | 70 mL × 1 | サンプル溶解   |
| ③Buffer EB                                     | 15 mL × 1 | DNA 溶出   |
| ④Buffer PB                                     | 30 mL × 1 | DNA 結合促進 |
| ⑤Buffer NW ※1                                  | 6 mL × 1  | カラム洗浄    |

## 4. 製品仕様

|                |                 |
|----------------|-----------------|
| 製品タイプ          | スピнкаラム         |
| 最大サンプル量        | 200 mg (糞便サンプル) |
| 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 | 100 µg          |

## 5. 使用上の注意

②Buffer FL、④Buffer PB に沈殿が生じた場合には 50 °C 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。

②Buffer FL と④Buffer PB 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ぜ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、ボルテックスミキサー、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

## 7. プロトコール

## 【重要】実験を始める前の注意事項

※1:⑤Buffer NW は、初回使用前にエタノール(分子生物学用)(別売)を 24 mL 加え、合計 30 mL としてからご使用下さい。

- 2.0 mL チューブに最大で 200 mg の糞便サンプルを加えます。
- 1.0 mL の①Buffer PBS を 1) のチューブに加え、1 分間ボルテックスミキサーで攪拌し、サンプルを均一化します。  
\*鳥糞または粘液便の場合、1.6 mL の①Buffer PBS を加えて攪拌後、15 秒間スピンドアウンした上清を使用して下さい。
- 2) のチューブを室温で 30 秒間静置します。

- 上清をピペットで新しい 2.0 mL チューブに移します。  
\*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。
- 室温で 2 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心し、上清をピペットで取り除きます。
- 1.3 mL の②Buffer FL を 5) のチューブに加え、ペレットをピペッティングで完全に懸濁します。
- 6) のチューブを室温で 5 分間静置後、室温で 5 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心します。
- 7) の上清をピペットで EzPass Filter (カラム:透明) に移します。  
\*1 回に移す量は 700 µL 以下を推奨します。
- 室温で 1 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心します。
- 8)~9) を繰り返し、7) の上清を全て EzPass Filter に通した後、EzPass Filter を新しい 1.5 mL チューブにセットします。
- 100 µL の③Buffer EB を EzPass Filter に加え、室温で 1 分間静置します。
- 室温で 1 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心します。
- ろ液に 500 µL の④Buffer PB を加え、均一になるまで混合します。
- 13) の混合液をピペットで SV Column type G (カラム:黄緑色) に移します。
- 室温で 1 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心し、ろ液を捨て、同じチューブに SV Column type G をセットします。
- 500 µL の⑤Buffer NW を SV Column type G に加えます。
- 室温で 1 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心し、ろ液を捨て、同じチューブに SV Column type G をセットします。
- 室温で 1 分間  $13,000 \times g$  以上で遠心し、Buffer NW を完全に除去した後、SV Column type G を新しい 1.5 mL チューブにセットします。  
\*⑤Buffer NW が残存すると後のステップに影響します。カラムに⑤Buffer NW が付着しないように十分注意して下さい。
- SV Column type G のメンブレンの中心に 50 µL の③Buffer EB を加え、室温で 1 分間静置します。室温で 1 分間  $10,000 \times g$  以上で遠心し、ろ液(DNA 溶液)を回収します。  
\*高濃度の DNA 溶液が必要な場合、③Buffer EB の添加量は 30 µL まで減らすことができますが、DNA の回収量は減少します。

◇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/762/pdf1.pdf](https://products.kanto.co.jp/uploads/pj46_m_pdf/762/pdf1.pdf)



## 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              | サンプルが適切に保存されていない | サンプルは 4 °C もしくは -20 °C で保存して下さい。           |
|                           | サンプル量が多すぎる       | サンプル量は 200 mg 以下にして下さい。                    |
|                           | サンプルの均一化が不十分     | プロトコール 2) を参照して下さい。                        |
|                           | 懸濁が不十分           | プロトコール 6) を参照して下さい。                        |
| PCR の増幅効率が低い              | テンプレート DNA の量が多い | DNA 量が多いと PCR を阻害する可能性があるため、適切な濃度に希釈して下さい。 |
| 回収した DNA 溶液を用いた実験がうまくいかない | ⑤ Buffer NW の残存  | プロトコール 18) を参照して下さい。                       |

## 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。

