Cat No. 08210-96

取　扱　説　明　書

分子生物学用

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST

1. はじめに

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST は、微生物試料からゲノム 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、インキュベートするだけの簡単な操作で PCR 等の遺伝子増幅反応に使用可能なテンプレート DNA が調製できます。

本試薬は、広範囲な試料に適用できますが、特にグラム陽性菌、真菌(酵母等)等の煩雑な DNA 抽出作業が必要な試料は、従来法よりも簡便に抽出可能です。

2. 製品形態

製品名	シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST (Cica Geneus® DNA Extraction Reagent ST)
製品番号	08210-96
容量	120 回分
保管温度	2 - 8 ℃

3. キットの構成

品名	容量・本数
試薬 a 液	1.2 ml × 1
試薬 b 液	12.0 ml × 1
取扱説明書	1 部

4. 原理

シカジーニアス® DNA抽出試薬 ST は、生体膜を速やかに可溶化する成分を含み、さらに加熱することで強固な構造の膜であっても破壊することができます。また、試料に由来するPCR阻害物質の作用を抑制する働きもあるため、本試薬で抽出したゲノム DNA は、精製操作を行うことなく PCR 等にそのまま使用可能です。本試薬は長期間保存できるように濃縮液として供給しており、使用直前に 2 液を混合してご使用下さい。なお、消防法、毒物及び劇物取締法等に該当しません。

5. 適用範囲

細菌・真菌を含む試料(液体培養や平板培養にて増菌、分離したものも含む)等

6. 試薬の準備

本試薬は使用する前にシカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST の試薬 a 液および試薬 b 液を静かに転倒混和して下さい。次いで、試薬 a 液、試薬 b 液を 1:10 の比率で混合し、DNA 抽出試薬混合液を調製して下さい(表 1)。

表 1. DNA 抽出試薬混合液の調製例

検体数	試薬 a 液(µl)	試薬 b 液(µl)
1	10	100
10	100	1,000
50	500	5,000
120	1,200	12,000

7. 標準プロトコール (PCR 試料作製)

1) 先に調製した DNA 抽出試薬混合液 100 µl を 200 µl 容のマイクロチューブに入れます。
2) 試料 10 µl を上記マイクロチューブに入れ、軽く混合します(使用上の注意事項の 1)参照)。
3) 65℃で 6 分間インキュベートします。
4) 94℃で 3 分間インキュベートします。
5) この反応液の上清をテンプレート DNA とします。

8. 使用上の注意事項

1) 微生物の平板培養の場合は、コロニーを滅菌水にマクファーランド比濁法を用いて濁度標準液 第 1～3 番程度となるように懸濁したものを試料として使用して下さい。あるいは、ごく少量のコロニーを掻き取り、DNA 抽出試薬混合液に直接懸濁することも可能です。菌濃度は濃すぎないようにご注意下さい(適宜調整して下さい)。
2) 試料の量に応じて、添加する DNA 抽出試薬混合液の量を適宜調整することもできます。
3) DNA 抽出液に不溶物が含まれる場合は、遠心分離し(約 10,000×*g*、5 分間)、その上清をご使用下さい。
4) 標準プロトコールにてゲノム DNA が抽出できない場合は、65℃のインキュベート時間を延長する(例えば 20 分間)ことで改善されることがあります。
5) PCR に供するテンプレート DNA 溶液は、総液量の 10% 以下として下さい。
6) 試料や PCR 酵素の種類によっては、PCR が阻害されることがあります。この場合、テンプレート DNA 溶液を適宜希釈するか、PCR 反応液にマグネシウム塩を添加することで改善されることがあります(終濃度として 2 mmol/l を目安として適宜調整して下さい)。
7) テンプレート DNA 溶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℃)にて保管して下さい。
8) 本試薬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。

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
〒541-0048　大阪市中央区瓦町 2 丁目 5 番 1 号　(06)6231-1672
〒812-0007　福岡市博多区東比恵 2 丁目 22 番 3 号　(092)414-9361
《URL; http://www.kanto.co.jp/, e-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp》

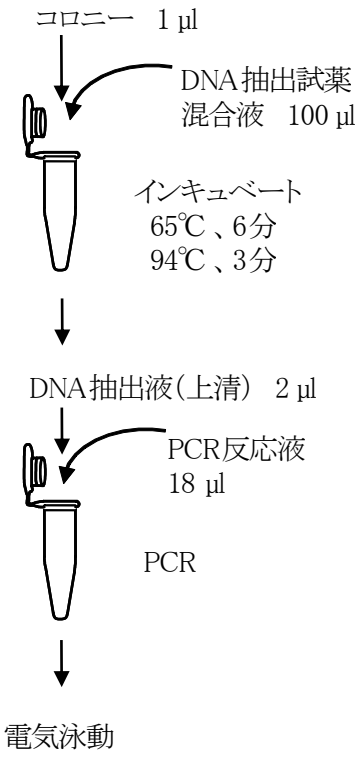
Cat No. 08210-96

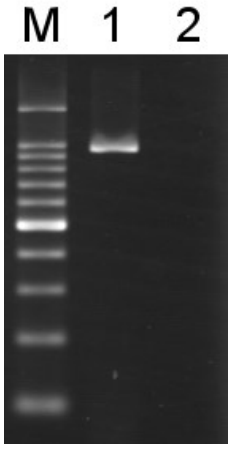
取　扱　説　明　書

分子生物学用

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST

シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST を用いた出芽酵母からの DNA 抽出と PCR による URA3 遺伝子の増幅例





- 試薬 a 液、試薬 b 液を 1:10 の比率で混合し、DNA 抽出試薬混合液を調製した。
- マイクロチューブに DNA 抽出試薬混合液を 1 検体あたり 100 µl 入れた。
- サブローブドウ糖寒天培地に播種して 37℃、一晩培養して得られた出芽酵母のコロニーをループで 1 µl 程度かき取り、DNA 抽出試薬混合液に懸濁した。
- ヒートブロックを使用してインキュベートした。
- インキュベート後の溶液を遠心分離し（10,000×*g*、5 分間）、上清をテンプレート DNA として PCR を行った。

PCR 反応液の組成:

テンプレート DNA	2.0 ul
AptaTaq DNA Master（5x conc.）	4.0 ul
Primer-Forward（10 pmol/µl）	1.0 µl
Primer-Reverse（10 pmol/µl）	1.0 µl
滅菌水	12.0 µl
合計	20.0 µl

反応条件:
（94℃ 30 秒， 48℃ 90 秒， 72℃ 60 秒）×30 回
→72℃ 7 分

電気泳動条件:
3% 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 DNA Ladder）
1. シカジーニアス® DNA 抽出試薬 ST による DNA 抽出液
2. 熱水による DNA 抽出液

増幅遺伝子:出芽酵母 URA3 遺伝子（939 bp）
プライマー配列は以下の文献を参照。
Casaregola S, et al.（2001）. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**, 1607-1618.

出芽酵母以外のアプリケーションについては、弊社までお問い合わせください。

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
〒541-0048　大阪市中央区瓦町 2 丁目 5 番 1 号　(06) 6222-2796
〒812-0007　福岡市博多区東比恵 2 丁目 22 番 3 号　(092) 414-9361
《URL; http://www.kanto.co.jp/, e-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp》