

取扱説明書

シカジーニアス® PCR & ゲルプレップキット
Cica Geneus® PCR & Gel Prep Kit

1. はじめに

本製品は PCR 産物、あるいは TAE Buffer や TBE Buffer を用いた様々なグレードのアガロースゲルから簡便・迅速に DNA フラグメントを回収するためのキットです。

本製品は、80 (PCR 産物の場合は 100) ~ 10,000 bp の DNA を高収率で抽出・精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® PCR & ゲルプレップキット (Cica Geneus® PCR & Gel Prep Kit)
製品番号	08111-97
容量	200 回分
保管温度	室温 (15 °C - 25 °C)

3. 構成試薬 (200 回)

個別名称	容量	用途
SV Column type D (コレクションチューブ付)	50 個 × 4	DNA 結合
①Buffer PB	120 mL × 1	DNA 結合促進
②Buffer GB	120 mL × 2	ゲル抽出と DNA 結合促進
③Buffer NW	250 mL × 1	カラム洗浄
④Buffer EB	30 mL × 1	DNA 溶出

4. 製品仕様

製品タイプ	スピнкаラム
標準サンプル量	100 µL (PCR 産物) 200 mg (ゲル重量)
最大ローディング量	700 µL
最小溶出液	30 µL
カラムの最大 DNA 結合量	10 µg
回収可能な DNA サイズ	100 bp ~ 10 kb (PCR 産物) 80 bp ~ 10 kb (ゲル)

回収率: ゲルの場合		PCR 産物の場合	
DNA サイズ (bp)	回収率 (%)	DNA サイズ (bp)	回収率 (%)
60	39	60	0
120	71	120	78
200	76	200	83
800	84	800	94
1,800	82	1,800	91
4,300	78	4,300	85
8,700	73	8,700	76

※DNA フラグメント 3 µg を 50 µL の Buffer EB で溶出した際の回収率

5. 保存条件

本製品は室温 (15 °C - 25 °C) で保存して下さい。①Buffer PB、②Buffer GB に沈殿が生じた場合、50 °C に加温して沈殿を完全に溶解してから使用して下さい。

6. 使用上の注意

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。また、①Buffer PB、②Buffer GB 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。

7. 必要な機器類

1.5 mL チューブ、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、ウォーターバス、2-プロパノール

8. その他の注意事項

本製品は試験研究用試薬として販売しております。医療や臨床診断用に使用しないで下さい。

9. プロトコール

*遠心操作は室温、10,000 × g (12,000 rpm) 以上で行って下さい。
*精製したい PCR 産物が 5 kb 以上である場合、抽出操作で 70 °C 以上に加温した④Buffer EB を用いると抽出効率が上がる可能性があります。

①PCR 産物からの精製の場合

- 1) PCR 反応液の 5 倍量の①Buffer PB を加え、混合します。
(例:100 µL の反応液の場合は 500 µL の①Buffer PB を添加)
- 2) ピペットで SV Column type D に移し、30 秒間遠心します
※ミネラルオイルを除去する必要はありません。
- 3) ろ液を捨て、SV Column type D をコレクションチューブに再度セットします。
- 4) 700 µL の③Buffer NW を SV Column type D に加え、30 秒間遠心します。ろ液を捨て、SV Column type D をコレクションチューブに再度セットします。
- 5) 4)をさらに 1 分間遠心し③Buffer NW の残留を完全に除去した後、SV Column type D を新しい 1.5 mL チューブにセットします。
- 6) 50 µL の④Buffer EB を SV Column type D のメンブレンの中心に添加し、室温で 1 分間静置します。その後、室温で 1 分間遠心を行いろ液 (DNA 溶液) を回収します。
※高濃度の DNA 溶液が必要な場合、④Buffer 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。
※長期保存する際には④Buffer EB あるいは TE Buffer (pH 8.0) で溶出後、-20 °C で保存して下さい。

②ゲルからの精製の場合

- 1) 清潔な剃刀の刃やメスを用いて目的の DNA フラグメントを含むアガロースゲルを切り取ります。この際、できる限り余分なゲルを取り除いて、ゲルスライスが最少量となるようにして下さい。(最大 400 mg)
- 2) チューブにゲルスライスを入れ重量を測定します。ゲル重量 1 mg に対して 3 µL の②Buffer GB を加えます。
(例:ゲルスライス 100 mg の場合は②Buffer GB を 300 µL 添加)
- 3) 50 °C で 5 ~ 10 分間、ゲルスライスが完全に溶解するまでインキュベートします。2 ~ 3 分おきにボルテックスミキサーで撹拌します。
- 4) ゲルスライスが完全に溶解後、溶液の色が黄色であることを確認します (アガロース溶解前の②Buffer GB と同様の色)。
※溶液の色が茶色から紫色となった際には、3M 酢酸ナトリウム (pH 5.0) を 10 µL サンプルに加えて下さい。
- 5) ゲルと等量の 2-プロパノールを 4) 溶液に添加しボルテックスミキサーで撹拌します。(例:ゲルスライス 100 mg の場合は 2-プロパノールを 100 µL 添加)
- 6) 5) 溶液を最大で 700 µL、SV Column type D に加え、1 分間遠心します。ろ液を捨て、SV Column type D をコレクションチューブに再度セットします。
- 7) 500 µL の②Buffer GB を SV Column type D に加え、30 秒間遠心します。
- 8) プロトコール① PCR 産物からの精製の場合の 3) から同様の手順を行います。

10. 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	溶出バッファーが不适当	Buffer EB 以外で溶出操作を行う場合、低塩濃度・アルカリ (pH 7 ~ 9) の液体で溶出して下さい。
	溶出バッファーのアプライが不适当	プロトコール①の 6) を参照し、メンブレンを覆うように中心に溶出バッファーをアプライして下さい。
回収した DNA 溶液を用いた実験がうまくいかない	Buffer NW の残存	プロトコール①の 5) を参照し、Buffer NW を完全に除去して下さい。
	DNA 溶液の塩濃度が高い	プロトコール①の 4) において、Buffer NW を加えた後に 5 分間静置して下さい。

