



GM quicker 2

- GMO DNA Extraction Kit
for Rice, Canola, and Potato -

マニュアル

Ver. 1.2

Code No. 310-06591



ニッポン・ジーン

目次

I	製品説明	2
II	キット内容	2
III	保存	3
IV	使用上の注意	3
V	プロトコール	3
	<コメ DNA 抽出プロトコール>	4
	<コメ1粒からの DNA 抽出プロトコール>	5
	<ナタネ DNA 抽出プロトコール>	6
	<ナタネ 1 粒からの DNA 抽出プロトコール>	7
	<生ジャガイモからの DNA 抽出プロトコール>	8
VI	データ集	10
	1. コメ種子からの DNA 抽出および制限酵素消化	10
	2. コメ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル	10
	3. コメ種子1粒からの DNA 抽出	11
	4. コメ種子1粒から抽出した DNA の PCR	12
	5. ナタネ種子からの DNA 抽出および制限酵素消化	12
	6. ナタネ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル	13
	7. ナタネ種子1粒からの DNA 抽出	13
	8. ジャガイモからの DNA 抽出および制限酵素消化	14
	9. ジャガイモから抽出した DNA の吸収スペクトル	14
	10. ジャガイモから抽出した DNA の PCR	15
	11. その他の雑穀種子からの DNA 抽出	16
VII	トラブルシューティング	17
VIII	関連製品	18
IX	簡易プロトコール	19

I 製品説明

GM quicker 2は、コメを始めとする穀物からDNAを抽出するためのキットです。本キットは、カオトロピックイオン存在下でDNAがシリカへ吸着する原理(Boom Technology)を採用しており、抽出操作にフェノールやクロロホルムなどの毒性有機溶媒を使用しません。遺伝子組換え作物(Genetically Modified Organisms:GMO)の検査においては、DNAを用いた方法が広く普及していますが、これまでの植物DNA抽出キットは抽出対象を「葉」としていたため、穀物からのDNA抽出には必ずしも効率的ではありませんでした。

本キットでは、抽出対象を穀粒へ特化させることによって、約40分間という短い時間で高い精製のDNAを抽出することができます。また、本キットは α -アミラーゼを使用する事により、うるち米のみならずもち米にも対応した設計となっており、コメ未知試料の検査において対応が可能です。さらに、コメ及びナタネに関しては、1粒検査のためのDNA抽出にも対応可能です。使用するスピニングカラムは、カラム容積を最大限確保しており、内封されたシリカゲル膜は、十分なDNA吸着容量と高い溶出効率を確保しています。

本キットによって抽出されたDNAは、PCRや制限酵素反応に適用することができます。

II キット内容

GE1 Buffer	40 ml	× 1 本 *
GE2-K Buffer	5 ml	× 1 本 *
GB3 Buffer	12.5 ml	× 1 本 *
GW Buffer	40 ml	× 1 本 *
TE (pH 8.0)	10 ml	× 1 本
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	× 1 本 *
α -Amylase (高濃度品)	0.1 ml	× 1 本 *
RNase A (100 mg/ml)	0.5 ml	× 1 本 *
Spin Column	50 個	
マニュアル	1 部	

* 別途、単品でお買い求めいただけます。詳細については18ページをご参照下さい。

III 保存

本キットに含まれる試薬のうち、Proteinase K 及び α -Amylase 以外は室温保存(15°C~25°C)が可能です。Proteinase K 及び α -Amylase は冷凍保存(-20°C)して下さい。RNase A は室温保存が可能です。長期間ご使用にならない場合には、冷蔵保存(2~10°C)をお勧めします。GW Buffer にはエタノールが含まれていますので、ご使用後は蒸発を防ぐために必ず蓋を閉めて下さい。

Spin Column は、製品到着後、直ちにキットから取り出し、冷蔵保存(2~10°C)して下さい。

IV 使用上の注意

- ・本キットは試験研究用試薬ですので、医薬品、その他の目的にはご使用になれません。
- ・試薬についての基本的な知識のある方以外は取り扱わないで下さい。
- ・本キットのお取り扱い、マニュアル記載内容通りに行ってください。
- ・マニュアル記載内容と異なったお取り扱いによるトラブルにつきましては、弊社では責任を負いかねます。

V プロトコール

<本キット以外に必要な試薬、機器など>

- ・イソプロパノール
- ・マイクロピペット
- ・ピペットチップ
- ・2.0 ml マイクロチューブ
- ・1.5 ml マイクロチューブ
- ・フードミル
- ・遠心機
- ・ボルテックスミキサー
- ・ペッサル

<コメ DNA 抽出プロトコール>

- ① コメをフードミル等で粉碎し、コメ粉末試料を調製する。
*粉碎しない方法：2.0 ml チューブにコメ20粒を入れ、700 μ l の GE1 Buffer で20分間、室温静置する。ペッスル等で良く破碎し、20 μ l の Proteinase K、2 μ l の α -Amylase および10 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。ボルテックスミキサーにて30秒間攪拌する → ③に続く
- ② 2.0 ml チューブに 0.5 g のコメ粉末試料を秤量し、700 μ l の GE1 Buffer、20 μ l の Proteinase K、2 μ l の α -Amylase および10 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。ボルテックスミキサーにて30秒間攪拌する。^(注1)
*もち米が試料中に混入していない事が予め分かっている場合は、 α -Amylase を添加しなくて良い。
- ③ 15分間、60 $^{\circ}$ C で加温する。
*もち米が試料中に混入していない場合は、65 $^{\circ}$ C で加温する。
- ④ 85 μ l の GE2-K Buffer を添加し^(注2)、ボルテックスミキサーにてよく混和する。
- ⑤ 遠心($\geq 13K \times g$, 5分間, 室温)する。^(注3)
- ⑥ 上清 400 μ l を新しい 1.5 ml チューブに移す。^(注4)
- ⑦ 150 μ l の GB3 Buffer を添加後、150 μ l のイソプロパノールを添加し、10~12回チューブを激しく転倒させ、よく混和する。^(注5)
- ⑧ ⑦の混合液を Spin Column に全量移し、遠心(13K \times g, 30秒間, 室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑨ 650 μ l の GW Buffer を Spin Column に添加した後、遠心(13K \times g, 60秒間, 室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑩ Spin Column を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- ⑪ 50 μ l の TE (pH8.0) を滴下した後、3分間室温で静置する。
- ⑫ 遠心(13K \times g, 60秒間, 室温)し、濾液を回収する。

<コメ1粒からの DNA 抽出プロトコール>

- ① コメ種子1粒をアルミホイル等で包み、金槌等で粉碎し、コメ粉末試料を調製する。
*粉碎しない方法 : 1.5 ml チューブにコメ1粒を入れ、250 μ l の GE1 Buffer で 20 分間、室温静置する。ペッスル等で良く破碎し、10 μ l の Proteinase K、2 μ l の α -Amylase および 5 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。ボルテックスミキサーにて 30 秒間攪拌する → ③に続く
- ② 1.5 ml チューブにコメ粉末試料を添加し、250 μ l の GE1 Buffer、10 μ l の Proteinase K、2 μ l の α -Amylase および 5 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。ボルテックスミキサーにて 30 秒間攪拌する。^(注1)
*もち米でない事が予め分かっている場合は、 α -Amylase を添加しなくて良い。
- ③ 15 分間 60°C で加温する。
*もち米でない場合は、65°C で加温する。
- ④ 40 μ l の GE2-K Buffer を添加し^(注2)、ボルテックスミキサーにてよく混和する。
- ⑤ 遠心($\geq 13K \times g$, 5 分間, 室温)する。^(注3)
- ⑥ 上清 200 μ l を 1.5 ml マイクロチューブに移す。^(注4)
- ⑦ 75 μ l の GB3 Buffer を添加後、75 μ l のイソプロパノールを添加し、10~12 回チューブを激しく転倒させ、よく混和する。^(注5)
- ⑧ ⑦で得られた 混合液を Spin Column に全量移し、遠心(13K $\times g$, 30 秒間, 室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑨ Spin Column に 650 μ l の GW Buffer を添加した後、遠心(13K $\times g$, 60 秒間, 室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑩ Spin Column を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- ⑪ 50 μ l の TE(pH8.0)を滴下した後、3 分間室温で静置する。
- ⑫ 遠心(13K $\times g$, 60 秒間, 室温)し、濾液を回収する。

<ナタネ DNA 抽出プロトコール>

- ① ナタネ種子をフードミル等で破碎し、ナタネ試料を調製する。
- ② 2.0 ml チューブで 0.2 g のナタネ粉末試料を秤量し、800 μ l の GE1 Buffer、20 μ l の Proteinase K、10 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。ボルテックスミキサーにて 30 秒間攪拌する。^(注1)
- ③ 15 分間 65°C で加温する。
- ④ 100 μ l の GE2-K Buffer を添加し^(注2)、ボルテックスミキサーにてよく混和する。
- ⑤ 遠心 ($\geq 13K \times g$, 5 分間, 室温) する。^(注3)
- ⑥ 上清 350 μ l を新しい 1.5 ml チューブに移す。^(注4)
- ⑦ 130 μ l の GB3 Buffer を添加する。
- ⑧ 130 μ l の イソプロパノールを添加し、10~12 回チューブを激しく転倒させ、よく混和する。^(注5)
- ⑨ ⑧の混合液を Spin Column に全量移し、遠心 ($13K \times g$, 30 秒間, 室温) し、濾液は廃棄する。
- ⑩ 650 μ l の GW Buffer を Spin Column に添加した後、遠心 ($13K \times g$, 60 秒間, 室温) し、濾液は廃棄する。
- ⑪ Spin Column を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- ⑫ 50 μ l の TE (pH8.0) を滴下した後、3 分間室温で静置する。
- ⑬ 遠心 ($13K \times g$, 60 秒間, 室温) し、濾液を回収する。

<ナタネ1粒からの DNA 抽出プロトコール>

- ① 1.5 ml チューブにナタネ種子1粒を入れ、ペッスルで良く破碎する。
- ② 250 μ l の GE1 Buffer、10 μ l の Proteinase K、5 μ l の RNase A をそれぞれ添加する。
ボルテックスミキサーにて 30 秒間攪拌する。^(注1)
- ③ 15 分間 65°C で加温する。
- ④ 40 μ l の GE2-K Buffer を添加し^(注2)、ボルテックスミキサーにてよく混和する。
- ⑤ 遠心 ($\geq 13K \times g$, 5 分間, 室温) する。^(注3)
- ⑥ 上清 200 μ l を 1.5 ml マイクロチューブに移す。^(注4)
- ⑦ 75 μ l の GB3 Buffer を添加する。
- ⑧ 75 μ l の イソプロパノールを添加し、10~12 回チューブを激しく転倒させよく混和する。^(注5)
- ⑨ ⑧ で得られた 混合液を Spin Column に移し、遠心 ($13K \times g$, 30 秒間, 室温) し、濾液は廃棄する。
- ⑩ Spin Column に 650 μ l の GW Buffer を添加した後、遠心 ($13K \times g$, 60 秒間, 室温) し、濾液は廃棄する。
- ⑪ Spin Column を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- ⑫ 50 μ l の TE (pH8.0) を滴下した後、3 分間室温で静置する。
- ⑬ 遠心 ($13K \times g$, 60 秒間, 室温) し、濾液を回収する。

<生ジャガイモからの DNA 抽出プロトコール>

*凍結乾燥ジャガイモ粉碎試料から DNA 抽出する場合、Proteinase K 及び α -Amylase は使用しません。その他の操作は、コメのプロトコール(p.4)と同じです。

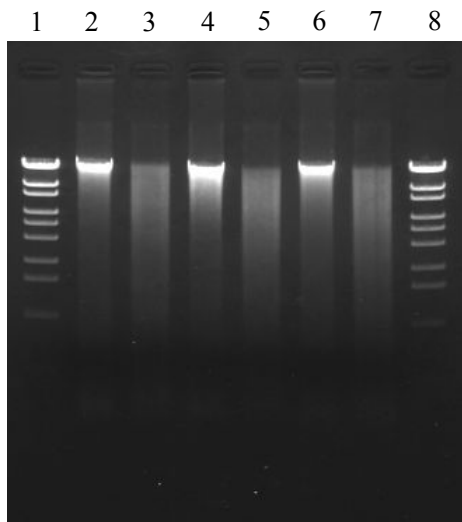
- ① 生ジャガイモを約 3 mm 角のサイコロ状にナイフを用いて細かく切断する。
- ② 1.5 ml チューブに細かくした試料を約 0.3 g 秤量し、500 μ l の GE1 Buffer 及び 4 μ l の RNaseA (100 mg/ml)を添加し、ペッスルで良く破碎する。^(注6)
- ③ ボルテックスミキサーにて 30 秒間 攪拌する。
- ④ 85 μ l の GE2-K Buffer を添加し^(注2)、ボルテックスミキサーにてよく混和する。
- ⑤ 遠心($\geq 13K \times g$ 、5 分間、室温)する。^(注3)
- ⑥ 上清 400 μ l を 1.5 ml チューブに移す。^(注4)
- ⑦ 150 μ l の GB3 Buffer を添加する。
- ⑧ 150 μ l のイソプロパノールを添加し、10~12 回チューブを激しく転倒させ、よく混和する^(注5)
- ⑨ ⑧で得られた混合液の全量を Spin column に移し、遠心(13K $\times g$ 、30 秒間、室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑩ Spin Column に 650 μ l の GW Buffer を添加した後、遠心(13K $\times g$ 、60 秒間、室温)し、濾液は廃棄する。
- ⑪ Spin Column を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- ⑫ 50 μ l の TE (pH8.0)を滴下した後、3 分間室温で静置する。
- ⑬ 遠心(13K $\times g$ 、60 秒間、室温)し、濾液を回収する。

- (注1) 攪拌操作が不十分な場合、DNA の収量が著しく減少します。また、チューブをボルテックスミキサーへ斜めにあてた場合、泡が大量に発生し攪拌効率が低下します。ボルテックスミキサーに対してチューブを垂直にあて、そのまま 30 秒間、しっかりと攪拌を行って下さい。攪拌が不十分であれば、更に 30~60 秒間攪拌を行って下さい。
- (注2) ②の操作で発生した泡がチューブ内に残っていても、続けて GE2-K Buffer を加えて下さい。②の混合液の粘度が高くなっているため、添加した GE2-K Buffer が十分に混ざるように転倒混和して下さい。
- (注3) 使用する冷却遠心機のローターの最高回転数および 1.5ml チューブの最大耐 g を確認して下さい。
- (注4) 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収して下さい。
- (注5) GB3 Buffer、イソプロパノールの順に添加した後に攪拌操作を行って下さい。その際に析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和して下さい。
- (注6) フードミルなどで破碎した後に抽出を行うと、ゲノミック DNA の電気泳動像がスミアになる事があるので、GE1 Buffer を添加後に破碎して下さい。

VI データ集

1. コメ種子からの DNA 抽出および制限酵素消化

本キットを用いてコメの種子から DNA 抽出を行った。いずれの種子からも DNA を抽出することができた。また、抽出した DNA を制限酵素 *EcoR* I で消化した。



- Lane 1, 8 : OneSTEP Marker 6(λ / *Sty* I digest)
- Lane 2 : コシヒカリ genomic DNA intact
- Lane 3 : コシヒカリ genomic DNA/ *EcoR* I digest
- Lane 4 : タイ米 genomic DNA intact
- Lane 5 : タイ米 genomic DNA/ *EcoR* I digest
- Lane 6 : もち米 genomic DNA intact
- Lane 7 : もち米 genomic DNA/ *EcoR* I digest

*本キットで抽出した DNA の 400ng を 1% Agarose S ゲルで電気泳動した。

2. コメ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

A260 付近に吸収ピークがあることから、本キットで抽出した DNA は高純度であることが示唆された。

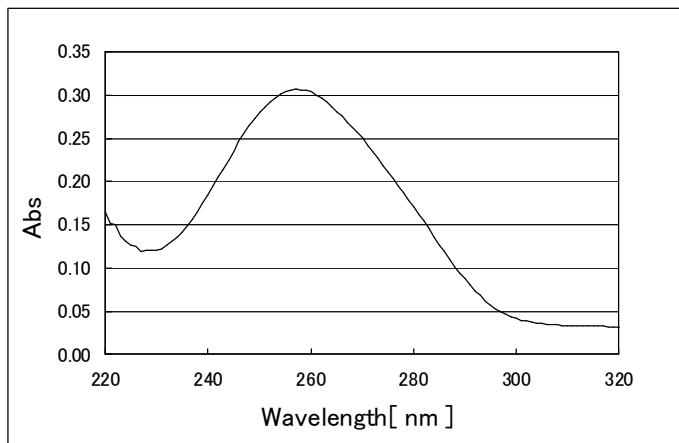


図 1. 本キットでコシヒカリ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

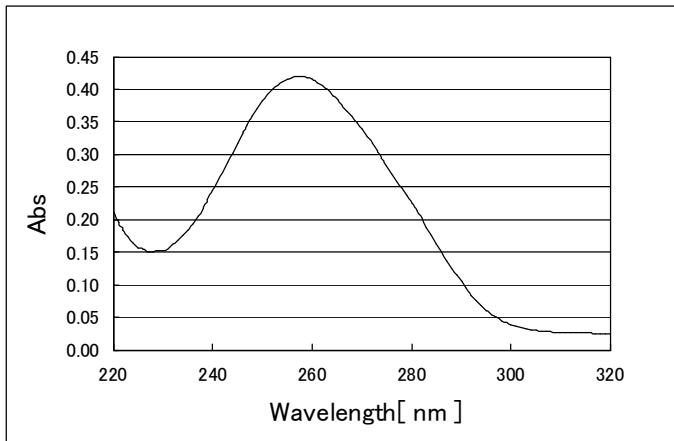


図 2. 本キットでタイ米種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

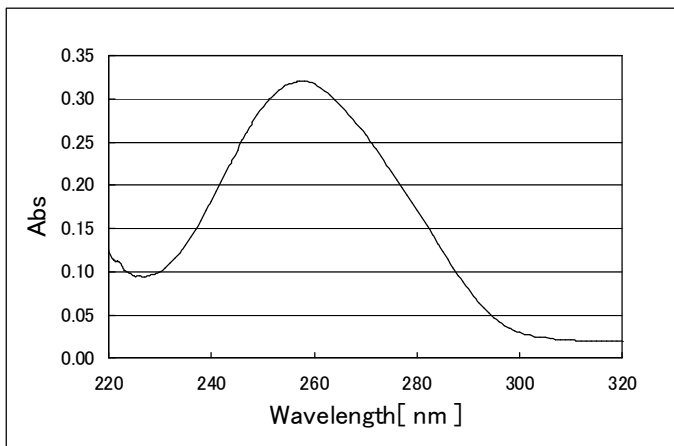
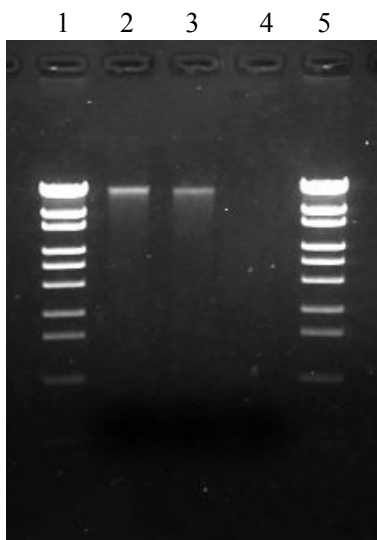


図 3. 本キットでもちこメ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

3. コメ種子1粒からの DNA 抽出

本キットを用いてコメ種子1粒から DNA 抽出を行った。



Lane 1, 5 : OneSTEP Marker6 (λ / *Sty* I digest)

Lane 2 : コシヒカリ玄米 genomic DNA

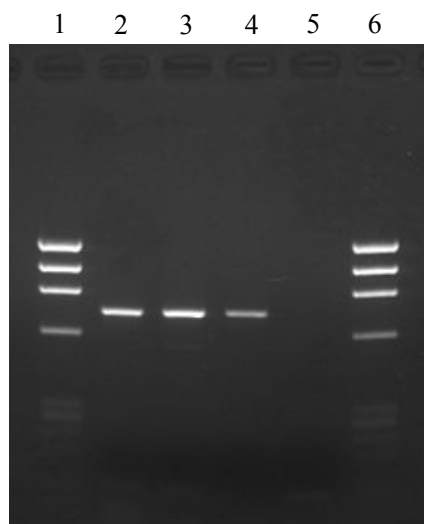
Lane 3 : コシヒカリ精米 genomic DNA

Lane 4 : コシヒカリ米飯 genomic DNA

* 本キットで抽出した DNA 50 μ l 中 20 μ l を 1% Agarose S ゲルで電気泳動した。

4. コメ種子1粒から抽出した DNA の PCR

本キットを用いて抽出した、コメ(コシヒカリ)種子1粒からの DNA サンプル 0.1 μ l を鋳型としてコシヒカリ特異的な領域を PCR にて増幅した。抽出サンプルによる PCR 阻害について確認した。



Lane 1, 6 : OneSTEP Marker 4 (ϕ X174/ *Hae*III digest)

Lane 2 : コシヒカリ玄米 genomic DNA を鋳型に増幅

Lane 3 : コシヒカリ精米 genomic DNA を鋳型に増幅

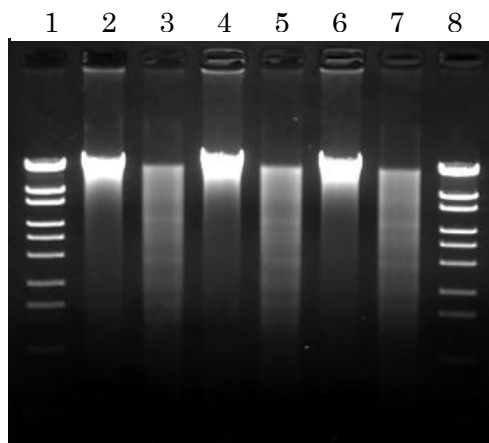
Lane 4 : コシヒカリ米飯 genomic DNA を鋳型に増幅

Lane 5 : Negative control

* PCR 産物の一部 (10 μ l) を 2% Agarose S ゲルで電気泳動した。

5. ナタネ種子からの DNA 抽出および制限酵素消化

本キットを用いてナタネの種子から DNA 抽出を行った。いずれの種子からも DNA を抽出することができた。また、抽出した DNA を制限酵素 *Eco*R I で消化した。



Lane 1, 8 : OneSTEP Marker 6 (λ / *Sty* I digest)

Lane 2, 4, 6 : ナタネ genomic DNA intact

Lane 3, 5, 7 : ナタネ genomic DNA/ *Eco*R I digest

* 本キットで抽出した DNA の 400 ng を 1% Agarose S ゲルで電気泳動した。

6. ナタネ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

A260 付近に吸収ピークがあることから、本キットで抽出した DNA は高純度であることが示唆された。

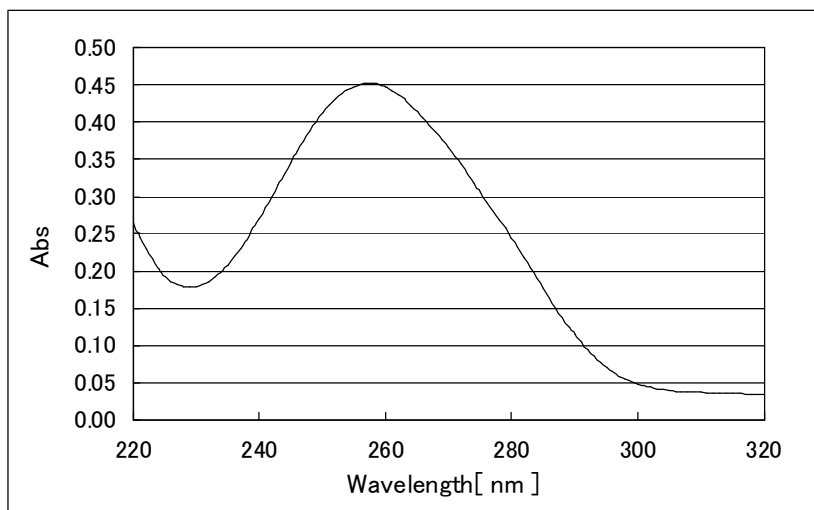
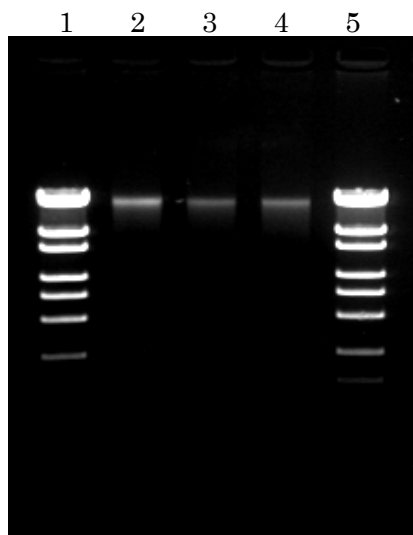


図 4. 本キットでナタネ種子から抽出した DNA の吸収スペクトル

7. ナタネ種子1粒からの DNA 抽出

本キットを用いてナタネ種子1粒から DNA 抽出を行った。



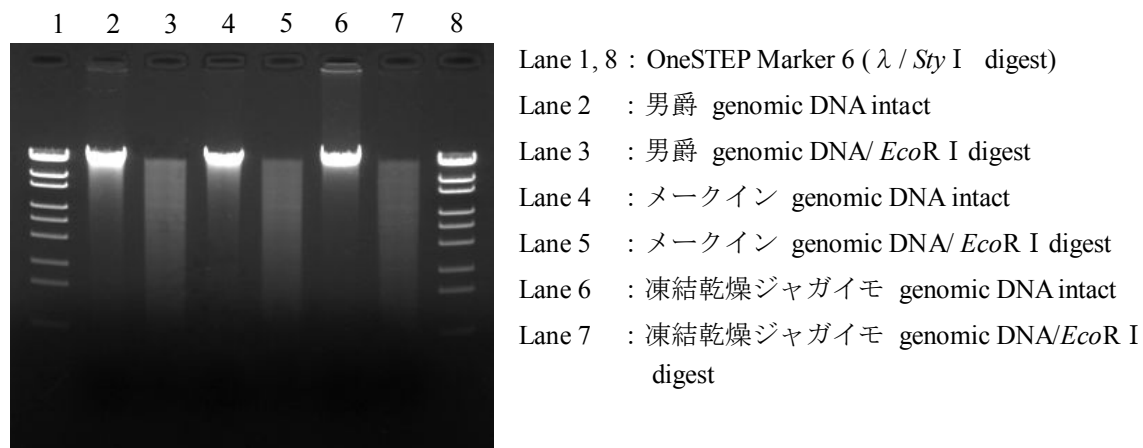
Lane 1, 5 : OneSTEP Marker6 (λ / *Sty* I digest)

Lane 2, 3, 4 : ナタネ genomic DNA

* 本キットで抽出した DNA 50 μ l 中 15 μ l を
1% Agarose S ゲルで電気泳動した。

8. ジャガイモからの DNA 抽出および制限酵素消化

本キットを用いて生ジャガイモから DNA 抽出を行った。からも DNA を抽出することができた。また、抽出した DNA を制限酵素 *EcoR* I で消化した。



*本キットで抽出した DNA の 200 ng を 1% Agarose S ゲルで電気泳動した。

9. ジャガイモから抽出した DNA の吸収スペクトル

A260 付近に吸収ピークがあることから、本キットで抽出した DNA は高純度であることが示唆された。

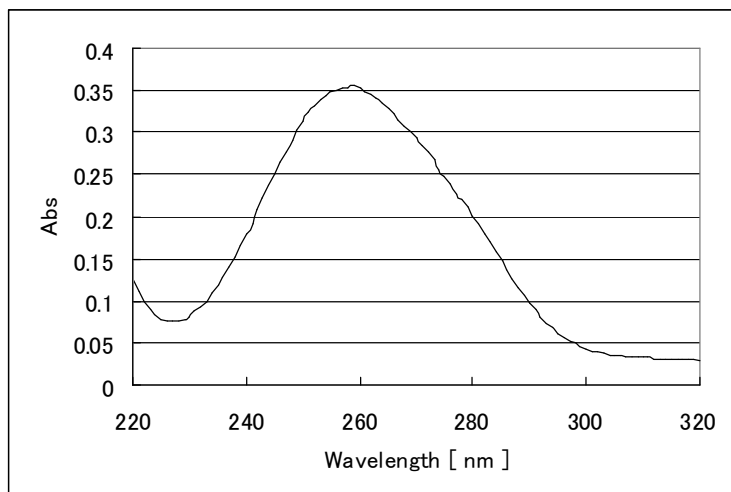


図 5. 本キットでメーカーインジャガイモから抽出した DNA の吸収スペクトル

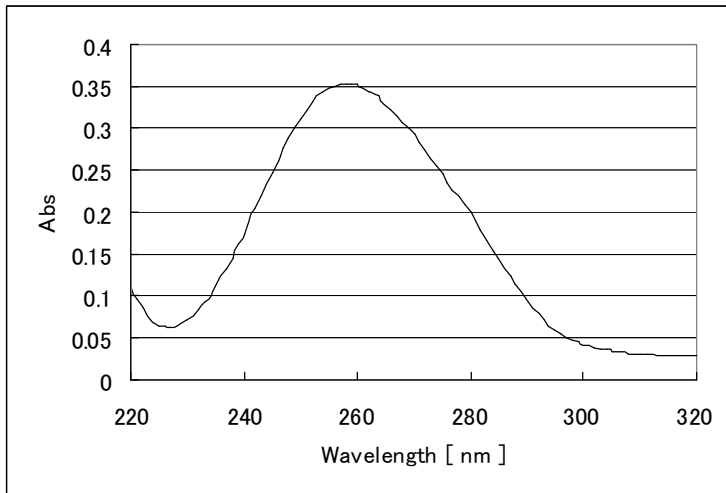
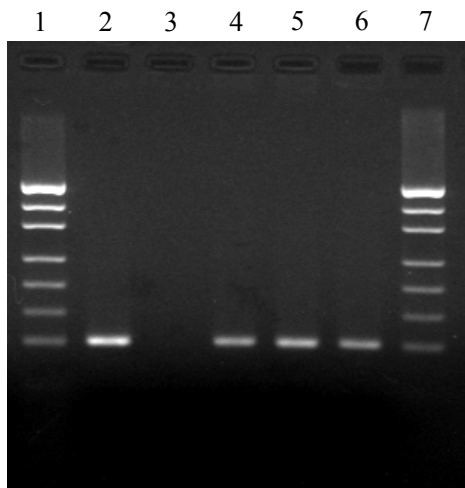


図 6. 本キットで男爵ジャガイモから抽出した DNA の吸収スペクトル

10. ジャガイモから抽出した DNA の PCR

本キットを用いて抽出した、ジャガイモの DNA 溶液 25 ng を鋳型として PCR(ジャガイモ内在性遺伝子 UGP)を行い、抽出サンプルによる PCR 阻害について確認した。

[参考資料(PCR):厚生労働省監修 食品衛生検査指針 理化学編 2005]



Lane 1,7 : OneSTEP Marker 11 (ϕ X174/ *Hae*III digest)

Lane 2 : Positive Control を鋳型に増幅

Lane 3 : No template Control

Lane 4 : 男爵ジャガイモ DNA を鋳型に増幅

Lane 5 : メーカーインジャガイモ DNA を鋳型に増幅

Lane 6 : 凍結乾燥ジャガイモ DNA を鋳型に増幅

* PCR 産物の一部 (5 μ l)を 3% Agarose 21 ゲルで電気泳動した。

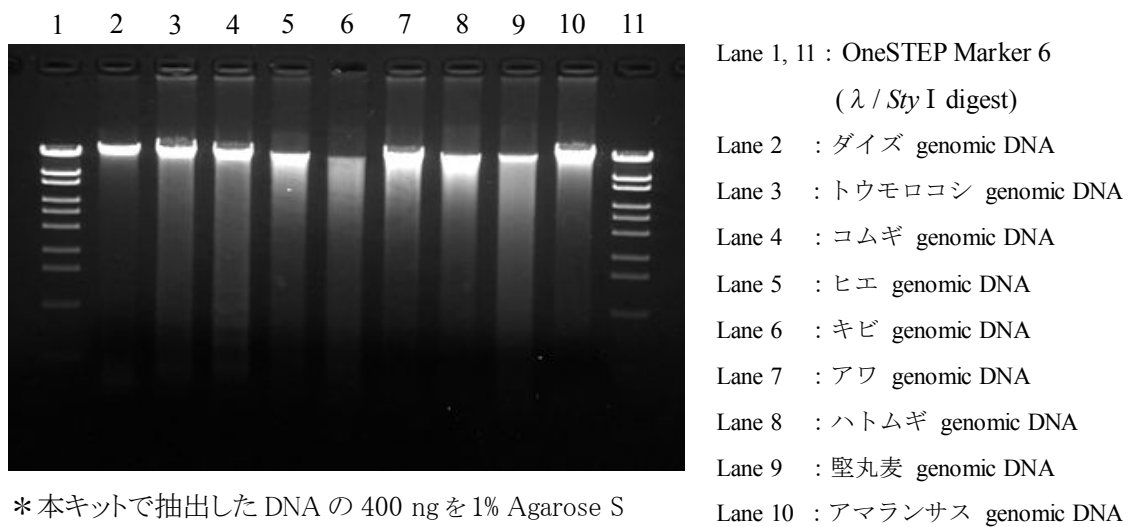
* 結果良好な増幅が認められた。

Positive Control : GM ジャガイモ定性試験用陽性コントロールプラスミド

(Code No.: 317-06501)

11. その他の雑穀種子からの DNA 抽出

本キットを用いて、コメ以外の雑穀種子からも DNA 抽出を行った。以下の穀物において DNA を抽出することができた。



* 本キットで抽出した DNA の 400 ng を 1% Agarose S
ゲルで電気泳動した。

* 各粉碎試料量は以下の通り。

ダイズ … 50 mg

トウモロコシ、コムギ、堅丸麦及びアマランサス … 200 mg

ヒエ、キビ、アワ及びハトムギ … 300 mg

VII トラブルシューティング

問題	考えられる原因	考えられる対策
DNA の収量が少ない。	試料の粉砕が不十分。	出来るだけ細かく試料を粉砕して下さい。 また、粉砕試料の粒径が均一であることが望ましいので、必要に応じて「ふるい」等で粒径を揃えて下さい。
	抽出効率が低下している。	GE1 Buffer および RNase A を添加後、よくボルテックスして下さい。
		2.0 ml チューブを斜めにボルテックスにあてた場合、泡が大量に出て攪拌効率が下がりますので、チューブをボルテックスに垂直にあてよく攪拌を行って下さい。
	溶出が不十分。	TE(pH8.0)を Spin Column へ添加した後、直ぐに遠心溶出を行った場合、DNA 収量にばらつきが生じます。一定の DNA 収量を得るため、室温で数分間静置した後、溶出を行って下さい。
	遠心温度が 15 °C 以下	室温 (15 °C - 25 °C) で遠心して下さい。
酵素処理温度が 70°C 以上	マニュアル記載の温度に調節して下さい。	
RNA の混入が多い。	RNase A の失活。	GE1 Buffer と RNase A は混合して保存することができません。それぞれを別々に保存して下さい。
GB3 Buffer を添加後に現れた白色沈殿がイソプロパノールおよびエタノール添加後も多量に残存する。	攪拌が不十分。	GE2-K Buffer 添加後、十分攪拌を行って下さい。 (参考: 試料によっては白沈が残る場合があります。この場合、GE2-K Buffer を添加後に十分攪拌を行い、遠心分離を行った後、その上清を Spin Column へ移して下さい。)
OD _{260/280} 値が低い。	遠心分離後の沈殿物もしくは浮遊物を Spin Column に持ち込んでいる。	上清を回収する際は、沈殿をチップの先で触れないように注意しながら行って下さい。

VIII 関連製品

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格
317-06361	<i>GM quicker</i>	50 回用	36,000 円
311-07241	<i>GM quicker 3</i>	50 回用	54,000 円
319-07161	<i>GM quicker 96</i>	96 ウェルプレート×4	120,000 円
317-07341	On-Site Column Set for <i>GM quicker</i>	20 回用	35,000 円
314-06371	GE1 Buffer	500 ml	12,000 円
311-06381	GE2 Buffer	200 ml	8,000 円
318-06391	RNase A (100 mg/ml)	0.5 ml×5	19,600 円
311-06641	GW Buffer	40 ml×2	8,000 円
318-06651	GE2-K Buffer	100 ml	8,000 円
315-06661	GB3 Buffer	12.5 ml×2	8,000 円
312-06671	<i>GM quicker 2</i> Enzyme Set (Proteinase K 2 ml, α -Amylase 0.2 ml)	1 Set	20,000 円
316-90025	TE (pH8.0)	500 ml	9,000 円
318-90105	Distilled Water, Deionized, Sterile	500 ml	9,000 円
312-01193	Agarose S	100 g	13,200 円
313-03242	Agarose 21	25 g	17,200 円
312-06512	Agarose XP	25 g	15,200 円
310-06513	Agarose XP	100 g	37,600 円
311-02682	Agarose X	25 g	20,400 円
311-05281	OneSTEP Marker 6	1,500 μ l	9,000 円
318-05791	OneSTEP Marker 4	375 μ l	9,000 円
312-05831	OneSTEP Marker 11	375 μ l	9,000 円

IX 簡易プロトコール

GM quicker 2 [簡易プロトコール]

コメ DNA 抽出プロトコール

 2mlチューブに粉末試料0.5g入れる

GE1 Buffer 700 μ l
Proteinase K (20mg/ml) 20 μ l
 α -アミラーゼ 2 μ l
RNase A (100mg/ml) 10 μ l


ボルテックスミキサー (30秒)
* 攪拌操作が不十分であると、DNAの収量が著しく減少する。ボルテックスミキサーに対して2mlチューブを垂直にあて、そのまま30秒、しっかりと攪拌を行う。攪拌が不十分である場合は、更に30~60秒間、攪拌を行う。

60 $^{\circ}$ C、15分静置

GE2-K Buffer 85 μ l

ボルテックスミキサー (数秒)

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、5分間、室温
* 半径8.2cmのローター使用時15,000rpm.

 上清400 μ lを新しい1.5mlチューブに移す
* 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収する。

GB3 Buffer 150 μ l
イソプロパノール 150 μ l
* GB3 Bufferを加えてから、続けてイソプロパノールを添加する。

転倒混和 (10~12回)
* 析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和する。

 Spin Columnに全量に移す

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、30秒、室温

濾液は廃棄

GW Buffer、650 μ l

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

濾液は廃棄

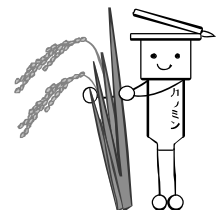
 Spin Columnを新しい1.5 mlチューブに付け替える

TE 50 μ l

室温、3分静置

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

DNA溶液 50 μ l



コメ 1粒からの DNA 抽出プロトコール

1.5mlチューブにコメ1粒の粉末試料を入れる

GE1 Buffer 250 μ l
 Protinasc K (20mg/ml) 10 μ l
 α -アミラーゼ 2 μ l
 RNase A (100mg/ml) 5 μ l

ボルテックスミキサー (30秒)
 * 攪拌操作が不十分であると、DNAの収量が著しく減少する。ボルテックスミキサーに対して2mlチューブを垂直にあて、そのまま30秒、しっかりと攪拌を行う。攪拌が不十分である場合は、更に30~60秒間、攪拌を行う。

60°C、15分静置

GE2-K Buffer 40 μ l

ボルテックスミキサー (数秒)

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、5分間、室温
 * 半径8.2cmのローター使用時15,000rpm。

上清200 μ lを新しい1.5mlチューブに移す
 * 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収する。

GB3 Buffer 75 μ l
 イソプロパノール 75 μ l
 * GB3 Bufferを加えてから、続けてイソプロパノールを添加する。

転倒混和 (10~12回)
 * 析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和する。

Spin Columnに全量を移す

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、30秒、室温
 濾液は廃棄

GW Buffer、650 μ l

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温
 濾液は廃棄

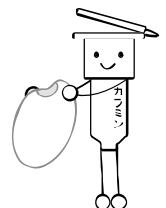
Spin Columnを新しい1.5 mlチューブに付け替える

TE 50 μ l

室温、3分静置

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

DNA溶液 50 μ l



ナタネ からの DNA 抽出プロトコール

2mlチューブに粉末試料0.2g入れる

GE1 Buffer 800 μ l
 Proteinase K (20mg/ml) 20 μ l
 RNase A (100mg/ml) 10 μ l

ボルテックスミキサー (30秒)
 * 攪拌操作が不十分であると、DNAの収量が著しく減少する。ボルテックスミキサーに対して2mlチューブを垂直にあて、そのまま30秒、しっかりと攪拌を行う。攪拌が不十分である場合は、更に30~60秒間、攪拌を行う。

65℃、15分静置

GE2-K Buffer 100 μ l

ボルテックスミキサー (数秒)

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、5分間、室温
 * 半径8.2cmのローター使用時15,000rpm.

上清350 μ lを新しい1.5mlチューブに移す
 * 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収する。

GB3 Buffer 130 μ l
 イソプロパノール 130 μ l
 * GB3 Bufferを加えてから、続けてイソプロパノールを添加する。

転倒混和 (10~12回)
 * 析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和する。

Spin Columnに全量を移す

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、30秒、室温

濾液は廃棄

GW Buffer、650 μ l

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

濾液は廃棄

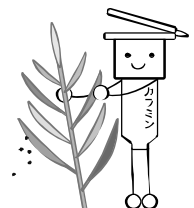
Spin Columnを新しい1.5 mlチューブに付け替える

TE 50 μ l

室温、3分静置

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

DNA溶液 50 μ l



ナタネ 1粒からの DNA 抽出プロトコール

1.5mlチューブにナタネ1粒の粉末試料を入れる

GE1 Buffer 250 μ l
 Proteinase K (20mg/ml) 10 μ l
 RNase A (100mg/ml) 5 μ l

ボルテックスミキサー (30秒)
 * 攪拌操作が不十分であると、DNAの収量が著しく減少する。ボルテックスミキサーに対して2mlチューブを垂直にあて、そのまま30秒、しっかりと攪拌を行う。攪拌が不十分である場合は、更に30~60秒間、攪拌を行う。

65°C、15分静置

GE2-K Buffer 40 μ l

ボルテックスミキサー (数秒)

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、5分間、室温
 * 半径8.2cmのローター使用時15,000rpm.

上清200 μ lを新しい1.5mlチューブに移す
 * 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収する。

GB3 Buffer 75 μ l
 イソプロパノール 75 μ l
 * GB3 Bufferを加えてから、続けてイソプロパノールを添加する。

転倒混和 (10~12回)
 * 析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和する。

Spin Columnに全量を移す

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、30秒、室温
 濾液は廃棄

GW Buffer、650 μ l

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温
 濾液は廃棄

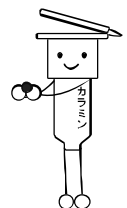
Spin Columnを新しい1.5 mlチューブに付け替える

TE 50 μ l

室温、3分静置

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

DNA溶液 50 μ l



ジャガイモ DNA 抽出プロトコール

1.5mlチューブに細かくした試料0.3gを入れる

GE1 Buffer 500 μ l
RNase A (100mg/ml) 4 μ l



ボルテックスミキサー (30秒)
* 攪拌操作が不十分であると、DNAの収量が著しく減少する。ボルテックスミキサーに対して2mlチューブを垂直にあて、そのまま30秒、しっかりと攪拌を行う。攪拌が不十分である場合は、更に30~60秒間、攪拌を行う。

GE2-K Buffer 85 μ l

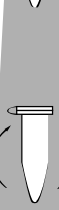


ボルテックスミキサー (数秒)

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、5分間、室温
* 半径8.2cmのローター使用時15,000rpm。

上清400 μ lを新しい1.5mlチューブに移す
* 沈殿や浮遊物を可能な限り取らないように上清を回収する。

GB3 Buffer 150 μ l
イソプロパノール 150 μ l
* GB3 Bufferを加えてから、続けてイソプロパノールを添加する。



転倒混和 (10~12回)
* 析出物が生じて白濁している場合には、液が透明になるまで十分に転倒混和する。

Spin Columnに全量を移す

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、30秒、室温

濾液は廃棄

GW Buffer、650 μ l

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

濾液は廃棄

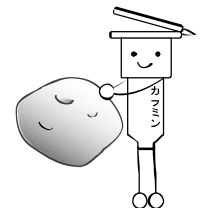
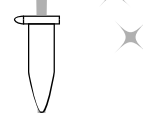
Spin Columnを新しい1.5 mlチューブに付け替える

TE 50 μ l

室温、3分静置

遠心 $\geq 13,000 \times g$ 、60秒、室温

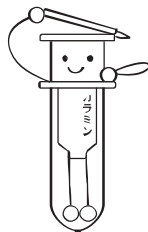
DNA溶液 50 μ l



<メモ欄>

<メモ欄>

<メモ欄>



お問い合わせ先

株式会社ニッポンジーン
研究試薬部 学術営業課

〒930-0834 富山県富山市問屋町1-8-7
T E L : 076 (451) 6548
F A X : 076 (451) 6547
E-mail : info@nippongene.com
U R L : <http://www.nippongene.com/>

- ・記載内容や製品仕様、価格に関しては予告なしに変更する場合があります。
- ・「ニッポンジーン」および「NIPPON GENE」は、株式会社ニッポンジーンの日本における登録商標です。
- ・その他、製品名等の固有名詞は各社の商標、または登録商標です。