

毛髪、爪からの DNA 抽出キット

---

---

# ISO HAIR

マニュアル

(第 12 版)

---

---

Code No. 315-03403 10 回用

Code No. 319-03401 100 回用

NIPPON GENE CO., LTD.

I	製品説明	2
II	内容	2
III	保存	2
IV	プロトコール	3
V	トラブルシューティング	6
VI	データ集	7
	1. ヒト毛髪、爪、口腔粘膜を用いた実験例	7
	2. ヒトの毛髪を用いた実験例	8
VII	参考文献	13
VIII	関連製品	14

### 使用上の注意

○ 本品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。また、試薬についての基本的な知識のある方以外は取り扱いしないでください。

○ 本品のお取り扱い、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。

## I 製品説明

ヒトの毛髪や爪からの DNA 抽出は法医学の分野において非常に重要な技術である。これらの試料から簡単かつ迅速に DNA を抽出できることは、分子生物学の分野において、これまで主な試料であった血液や組織と比べてウイルス感染等の危険が少なく、試料の入手も簡単であるという点で有用である。

ISOHAIR(アイソヘア)はヒトの毛髪、爪からの DNA 抽出用キットである。

毛髪や爪の主成分はケラチンという非常に分解しにくいタンパク質であり、毛髪を完全に溶解するには、通常タンパク質分解酵素を含むバッファー中でインキュベートを長時間行わなければならない。

本品は毛髪を約 30 分間で完全に分解することを可能にした。操作が簡単なうえに約 1 時間で DNA を抽出することができるため、ヒトゲノム DNA が必要な場合にも大変便利である。

また、本品を用いてマウス体毛及び爪から DNA を抽出したデータも得られている。

## II 内容

	(100 回分)	(10 回分)
Extraction Buffer *1	20 ml	1 ml×2
Enzyme Solution	1 ml	100 μl
Lysis Solution	0.8 ml	80 μl
Ethachinmate	0.2 ml	20 μl
3M Sodium Acetate (pH5.2)	2 ml	200 μl
TE (pH8.0)	1 ml×2	200 μl

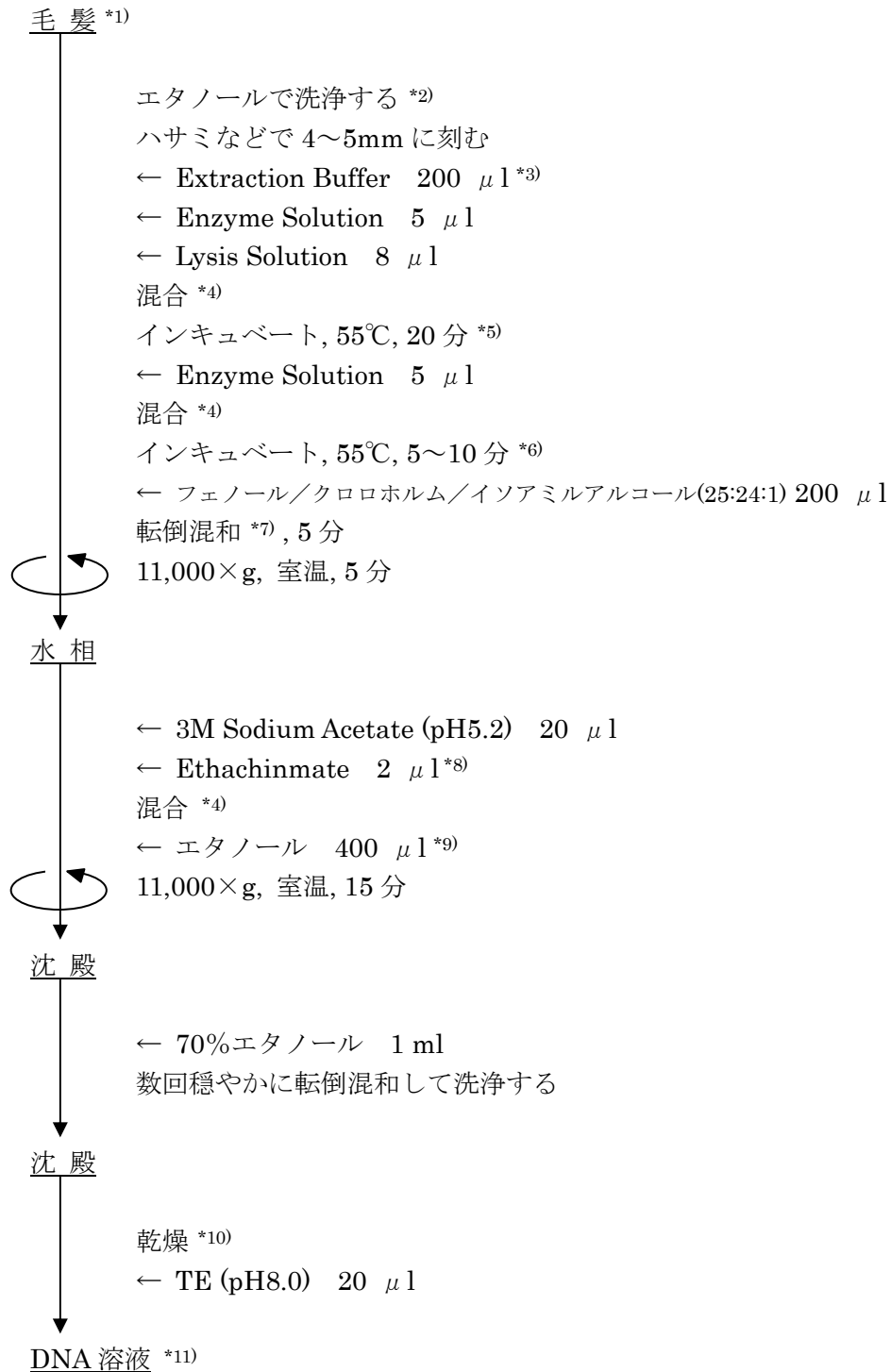
- \*1 Extraction Buffer 中に白い結晶が現れることがあるが、品質には問題はない。このような場合には、50℃程度の湯浴中で結晶を完全に溶解させてから使用する。また、Extraction Buffer にはタンパク質変性剤等が含まれているので、取り扱いに注意する。眼に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに多量の水で十分に洗い流す。

フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール (→VIII 「関連製品」 (p.14) 参照)、エタノール、プライマーなどは本品に含まれておりません。

## III 保存

-20℃

## IV プロトコール

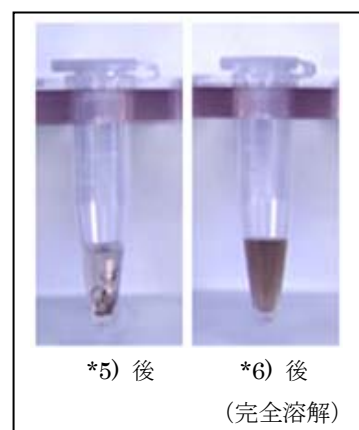


- \*1) 試料の必要量は以下のとおりである。
- ヒト毛髪：毛根部試料は抜去した毛髪の毛根から約 1cm、毛幹部試料は毛根部試料の先 2~6cm。〔VI 2.「毛髪から得られる DNA 量」(p.11) 参照〕
- ヒト爪：先端を爪切りで切り取り、それをカッターで約 1mm 角位に切ったもの 2 個(0.5mg)程度。
- マウス体毛：一つまみ(5mg 程度)分をはさみで切り取ったもの。
- マウス爪：先端から約 1~2mm 程度を切り取ったもの。
- なお、試料は新鮮なものの方が収量がよい。〔VI 2.「脱毛後の時間経過と DNA 量」(p.12) 参照〕
- \*2) 整髪剤が PCR 反応を阻害することがある。毛髪に整髪剤や汚れ、ホコリ等が付着している場合には、エタノールを用いて以下の通り洗浄を行う。
- ① 1.5ml プラスチックチューブにエタノールを約 1ml 注ぐ。
  - ② ①の中にピンセットを用いて切断する前の毛髪を入れる。
  - ③ ②を数回転倒させる。
  - ④ ピンセットで毛髪を取り出し、ろ紙等の上に置き、エタノールをできるだけ除去する。
- なお、毛髪が清潔で整髪剤等が付着していない場合には、エタノール洗浄を行わなくてもよい。マウスの体毛の場合には、エタノール洗浄を行うことを勧める。爪にマニキュア等がついている場合には、除去してから使用する。
- \*3) Extraction Buffer 中に白い結晶が現れることがあるが、品質には問題ない。このような場合には 50℃程度の湯浴中で結晶を完全に溶解した後、内容物が均一になるよう攪拌してから使用する。
- また、Extraction Buffer にはタンパク質変性剤等が含まれているので、取り扱いに注意する。目に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに多量の水で十分に洗い流す。
- 以降、エタノール沈殿までの操作は、特記の無い限り、全て室温で行う。

- \*4) 指でチューブを数回はじいて混合する。ボルテックス等の激しい操作は避ける。

- \*5) この操作により毛髪を溶解させる。
- 反応温度は 37℃あるいは室温でも可能である。37℃の場合、反応時間は 55℃の時の 2~3 倍、室温では 3~5 倍必要である。

- \*6) 溶解途中で、毛髪は細かく切断された状態で沈殿する。
- この反応では、反応時間中 2~3 分毎にチューブの底を指で軽くはじいて攪拌する。髪の質や量によって溶解時間が異なる。毛髪が完全に溶解されない場合には、ここで (\*6)後) さらに Enzyme Solution 5  $\mu$ l を加え、55℃で 5~10 分イン



キュベートすることにより、溶解が促進される。

毛髪がどうしても溶け残ってしまう場合、完全溶解しなくても DNA は溶出しているので、そのまま以後の操作を行う。なお、マウスの体毛の場合には、通常完全溶解しない。

ヒト及びマウスの爪の場合には、見た目上ほとんど変化はおこらない(溶解していないように見える)が、実際には DNA が溶出しているので、そのまま以後の操作を行う。

- \*7) 穏やかに転倒混和する。ボルテックス等の激しい操作は避ける。
- \*8) エタノール沈殿の際、Ethachinmate を加えることにより、微量な DNA を効率よく回収することができ、 $-20^{\circ}\text{C}$ での低温保存を省くことができる。
- \*9) 収量が少ない場合、ここで $-20^{\circ}\text{C}$ 、30 分の低温保存を行うことにより、収量が上がることもある。
- \*10) 5~10 分間の真空乾燥または風乾を行う。乾燥しすぎると DNA が溶けにくくなることもある。
- \*11) 毛根から DNA を抽出した場合、RNA が混入してくることがある。必要であれば、RNase 処理を行い、RNA を除去する。

## V トラブルシューティング

- 毛髪が溶けない。
  - ・プロトコール\*6) 後、さらに Enzyme Solution を 5 $\mu$ l 加え、55°C でインキュベートする。
  - ・毛髪が溶け残ってしまう場合、完全溶解しなくても DNA が溶出しているので、そのまま以後の操作を行う。
  
- 得られた DNA を電気泳動してもバンドが確認できない。
  - ・毛髪から得られる DNA 量は、個人によって、あるいは同一人物でも毛髪一本一本によって差がある。また、1 本の毛髪でも毛根部と毛幹部では差がある。毛髪(特に毛幹部)から DNA を抽出する場合、得られた DNA が微量であるために電気泳動を行ってもゲル上でバンドを確認できない場合があるのでそのまま PCR のステップへ進めてみる。→VI 1. 「毛髪から得られる DNA 量」(p.11) 参照。
  
- DNA 溶液が着色している。
  - ・毛髪に含まれている色素メラニンが溶出していると思われる。メラニンは PCR を阻害するが、この場合には、PCR を行う際に T4 gene 32 protein を添加すると、阻害が緩和されることがある。→VI 2. 「T4 gene 32 protein を用いた PCR 阻害の緩和」(p.9, 10) 参照。
  
- PCR を行っても全く増幅しない。
  - ・毛髪の毛根部あるいはできるだけ毛根部に近い部分を使用する。→VI 2. 「毛髪の部位と DNA 量」(p.11) 参照。
  - ・新鮮な毛髪を用いる。→ VI 2. 「脱毛後の時間経過と DNA 量」(p.12) 参照。
  - ・得られた DNA 溶液が着色している場合には、PCR 阻害物質であるメラニンが含まれていると思われる。この場合には、PCR を行う際に T4 gene 32 protein を添加すると、阻害が緩和されることがある。→VI 2. 「T4 gene 32 protein を用いた PCR 阻害の緩和」(p.9, 10) 参照。
  - ・PCR 条件を検討する。  
プライマーの設計を変える、*Taq* DNA polymerase の量を増やす、変性温度を変えるなど。
  
- 増幅産物がスメアリングする。
  - ・*Taq* DNA Polymerase の量を減らす。
  - ・テンプレートの量を増やす。
  - ・変性温度を高くする。
  - ・プライマーを長くする。→VI 2. 「PCR 条件」(p.12) 参照
  
- 目的のバンドと異なるものが増幅される。
  - ・プライマーの設計を変える。
  - ・毛髪をよくエタノール洗浄してから抽出する。

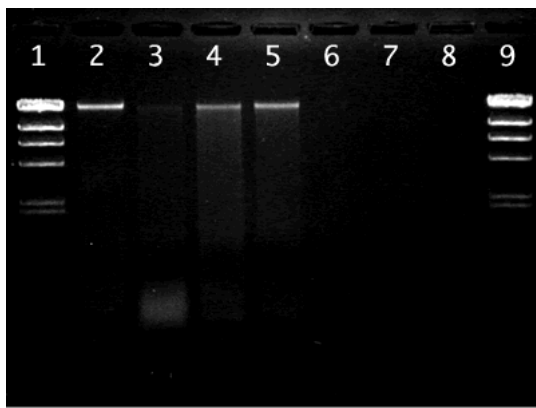
## VI データ集

### 1. ヒト毛髪、爪、口腔粘膜を用いた実験例

ISOHAIR を用いて、毛根部、爪、口腔粘膜より DNA を抽出した。

口腔粘膜は綿棒で採取し、(1) 1×PBS で懸濁後に遠心分離した沈殿を使用する方法と、(2) Extraction Buffer に直接綿棒を入れて懸濁したものを使用する方法の二通りで試した。(詳細な実験手順については、ニッポンジーン ホームページを参照ください)

それぞれの試料から得られた DNA の 1/4 量を使用して電気泳動を行った。



Marker 1( $\lambda$ /HindIII digest)  
0.8% Agarose S

Lane 1: Marker  
Lane 2: 毛根部 1cm×3 本  
Lane 3: 爪 1mm 角×2 個  
Lane 4: 口腔粘膜 (1)  
Lane 5: 口腔粘膜 (2)  
Lane 6: コントロール: 綿棒 (1)  
Lane 7: コントロール: 綿棒 (2)  
Lane 8: ネガティブコントロール  
Lane 9: Marker

それぞれの試料から得られた DNA 溶液の 1/10 量を使用して、ヒト *p53* 遺伝子 (Exon 10 ; 279bp) を PCR にて増幅し、電気泳動を行った。



Marker 5 ( $\phi$  X174/Hinc II digest)  
3% Agarose 21

#### <PCR 混合液>

Template DNA	2 $\mu$ l
10×Gene Taq Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene Taq NT (5units/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	36.5 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

#### <PCR 条件>

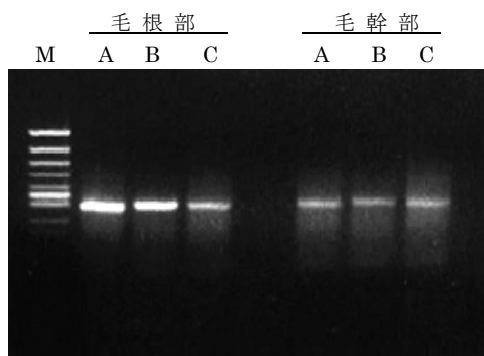
94°C	1 min.	} 35 cycles
94°C	30 sec.	
55°C	30 sec.	
72°C	1 min.	
72°C	5 min.	



## 2. ヒトの毛髪を用いた実験例

### ミトコンドリア DNA の検出

ISOHAIR を用いて、A、B、C 3 人の毛根部 1cm または毛幹部 6cm より DNA を抽出した。得られた DNA の 1/4 量を使用して、ヒト ミトコンドリア DNA (D ループ領域; 280bp) を PCR にて増幅し、電気泳動を行った。



M: Marker 5 ( $\phi$  X174/HincII digest)  
3% Agarose 21

#### <PCR 混合液>

Template DNA	5 $\mu$ l
10 $\times$ Gene Taq Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer (20 $\mu$ mol each/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene Taq NT (5units/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	34.5 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

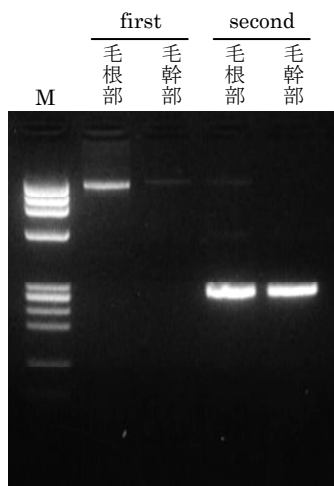
#### <PCR 条件>

94 $^{\circ}$ C	1 min.	} 40 cycles
98 $^{\circ}$ C	15 sec.	
55 $^{\circ}$ C	15 sec.	
72 $^{\circ}$ C	30 sec.	
72 $^{\circ}$ C	5 min.	

### p53 遺伝子の検出

ISOHAIR を用いて、毛根部 1cm または毛幹部 6cm より DNA を抽出した。

得られた DNA の 1/4 量を使用して、ヒト p53 遺伝子(exon11)を semi-nested PCR(first PCR 産物 1296bp、second PCR 産物 265bp)<sup>1)</sup> にて増幅し、電気泳動を行った。



M: Marker 4 ( $\phi$  X174/HaeIII digest)  
3% Agarose 21

#### <PCR 混合液>

Template DNA	
10 $\times$ Gene Taq Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20 $\mu$ mol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20 $\mu$ mol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene Taq NT (5units/ $\mu$ l)	0.25 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

#### <first PCR 条件>

94 $^{\circ}$ C	1 min.	} 40 cycles	*テンプレートは 5 $\mu$ l を使用した。
98 $^{\circ}$ C	15 sec.		
55 $^{\circ}$ C	15 sec.		
72 $^{\circ}$ C	30 sec.		
72 $^{\circ}$ C	5 min.		

#### <second PCR 条件>

94 $^{\circ}$ C	1 min.	} 30 cycles	*first PCR 産物 1 $\mu$ l をテンプレートとした。
98 $^{\circ}$ C	15 sec.		
60 $^{\circ}$ C	15 sec.		
72 $^{\circ}$ C	30 sec.		
72 $^{\circ}$ C	5 min.		

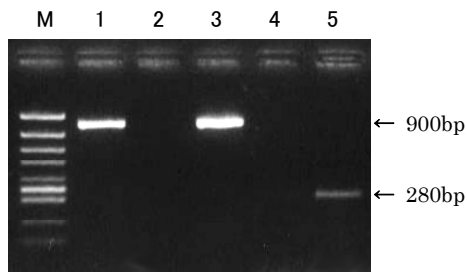
ヒト p53 遺伝子を増幅した first PCR 産物を用いてサイクルシーケンズを行ったところ、毛根部、毛幹部ともにシーケンズすることができた。

## T4 gene 32 protein を用いた PCR 阻害の緩和

毛髪から抽出した DNA 溶液が、茶褐色や黒色に着色していることがある。これは 15cm 以上の長い毛髪の毛先部や脱色された毛髪において特に顕著である。着色の原因物質は毛髪に含まれている色素メラニンであると考えられ、PCR を阻害することが報告されている<sup>3)</sup>。

ISOHAIR を用いて、毛髪よりメラニンを多く含むと思われる DNA を抽出した。既に PCR による増幅が確認されている(Lane 1)反応混合液に、得られた DNA の 1/20 量を添加したところ増幅しなかった(Lane 2)。そこで、さらに T4 gene 32 protein を添加したところ増幅した(Lane 3)。

また、得られた DNA をテンプレートとして、ヒト ミトコンドリア DNA(280bp)の PCR を行ったところ増幅しなかった(Lane 4)が、T4 gene 32 protein を添加したところ増幅した(Lane 5)。



M: Marker 5 ( $\phi$  X174/Hinc II digest)  
3% Agarose 21

- Lane 1: ColE1 をテンプレートとした 900bp の増幅  
Lane 2: Lane 1 + 毛幹部 6cm より抽出した、メラニンを多く含む DNA1/20 量  
Lane 3: Lane 2 + T4 gene 32 protein (2  $\mu$ g)  
Lane 4: 毛幹部 6cm より抽出した、メラニンを多く含む DNA1/20 量をテンプレートとしたヒトミトコンドリア DNA (280bp) の増幅  
Lane 5: Lane 4 + T4 gene 32 protein (2  $\mu$ g)

### <ColE1 PCR 混合液>

Template DNA (ColE1/Sau96I digest)	0.1ng
10×Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Total (H <sub>2</sub> O up to)	40 $\mu$ l

### <ヒトミトコンドリア DNA PCR 混合液>

10×Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	28 $\mu$ l
Total	40 $\mu$ l

	Lane1	Lane2	Lane3
ColE1 PCR 混合液	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l
メラニンを多く含む DNA 溶液	0 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l
T4 gene 32 protein(0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)	0 $\mu$ l	0 $\mu$ l	4 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	10 $\mu$ l	9 $\mu$ l	5 $\mu$ l
Total	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l

	Lane4	Lane5
ヒトミトコンドリア DNA PCR 混合液	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l
メラニンを多く含む DNA 溶液(鋳型)	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l
T4 gene 32 protein(0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)	0 $\mu$ l	4 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	9 $\mu$ l	5 $\mu$ l
Total	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l

### <PCR 条件>

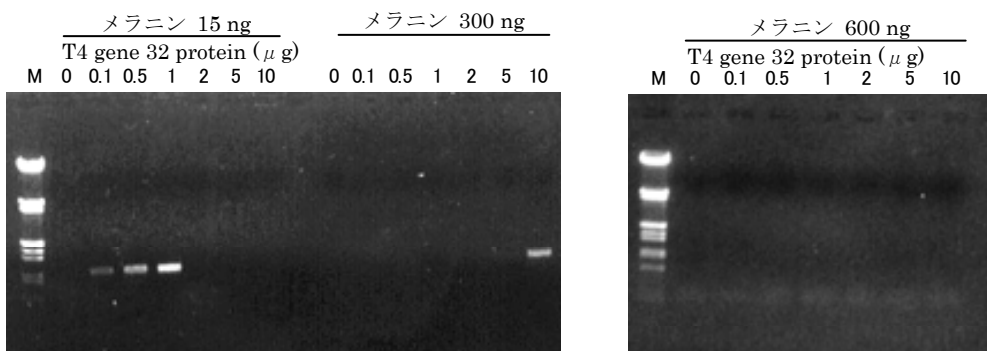
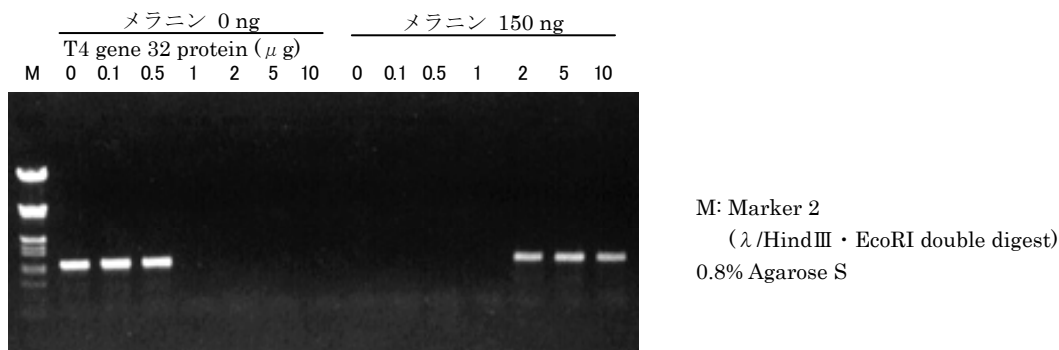
94°C 1 min.	} 20 cycles
94°C 20 sec.	
55°C 20 sec.	
72°C 20 sec.	
72°C 5 min.	

### <PCR 条件>

98°C 1 min.	} 35 cycles
98°C 15 sec.	
60°C 15 sec.	
72°C 30 sec.	
72°C 5 min.	

<参考データ>

次に、メラニン量と T4 gene 32 protein の添加量の関係について例を示した。  
 T4 gene 32 protein によるメラニンの PCR 阻害の緩和について前ページで記述したが、  
 T4 gene 32 protein 自身も、過剰量添加することにより、PCR 阻害を引き起こす。  
 また、メラニン含量が非常に高い場合、T4 gene 32 protein を添加しても、阻害を緩和  
 することができないことが予想される。



<ColE1 PCR 混合液>

Template DNA (ColE1/Sau96I digest)	0.1 ng
10×Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
メラニン	0, 15, 150, 300, 600 ng
T4 gene 32 protein	0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10 $\mu$ g
H <sub>2</sub> O	
Total	50 $\mu$ l

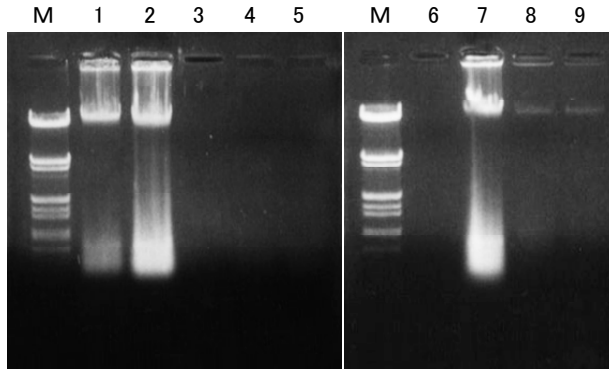
<PCR 条件>

94°C	1 min.	} 20 cycles
94°C	20 sec.	
55°C	20 sec.	
72°C	1 min.	

## 毛髪から得られる DNA 量

ISOHAIR を用いて、A、B、C 3 人の毛根部または毛幹部より DNA を抽出し、電気泳動を行った。

個人によって、あるいは同一人物でも毛髪によって DNA 量に差があることが認められた。抽出されてくる DNA 量は、アガロース電気泳動の結果より、毛髪 1 本あたり毛根部では約 0.5  $\mu$ g、毛幹部では、ごく微量で検出できないことから 10ng 以下であると思われる<sup>4)</sup>。



\* Lane 1, 2, 7 の下部のバンド (矢印の位置) は RNA である。

Lane 1: A 毛根部 1 cm  
 Lane 2: A 毛根部 1 cm×5 本  
 Lane 3: A 毛幹部 6 cm  
 Lane 4: A 毛幹部 18 cm  
 Lane 5: A 毛幹部 36 cm  
 Lane 6: B 毛根部 1 cm  
 Lane 7: B 毛根部 1 cm×5 本  
 Lane 8: C 毛根部 1 cm  
 Lane 9: C 毛根部 1 cm×5 本

M: Marker 2

( $\lambda$ /HindIII · EcoRI double digest)

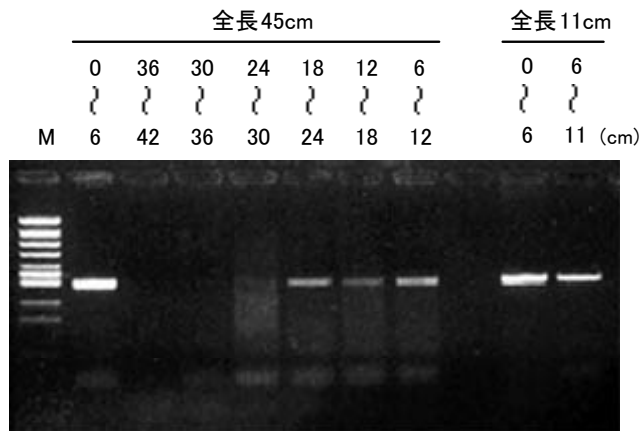
0.8% Agarose S

## 毛髪の部位と DNA 量

毛幹部から DNA を抽出する際、毛髪の長さが同じでも、部位によって収量に差が認められる。

ISOHAIR を用いて、全長 45cm または 11cm の毛髪の毛根部から 0~6cm、6~12cm、12~18cm、18~24cm、24~30cm、30~36cm、36~42cm の部位より DNA を抽出した。得られた DNA の 1/4 量を使用して、ヒト ミトコンドリア DNA (D ループ領域; 280bp) を PCR にて増幅し、電気泳動を行った。

毛根部により近い部位の方が増幅量が多く、試料に含まれる DNA が多いと思われる。



M: Marker 5 ( $\phi$  X174/Hinc II digest)

3% Agarose 21

<PCR 混合液>

Template DNA	5 $\mu$ l
10×Gene Taq Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer (20pmol each/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene Taq NT (5units/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	34.5 $\mu$ l
Total	50 $\mu$ l

<PCR 条件>

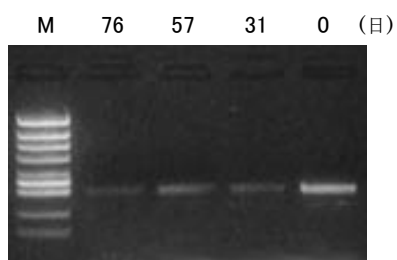
94°C 1 min.	} 40 cycles
98°C 15 sec.	
55°C 15 sec.	
72°C 30 sec.	
72°C 5 min.	

## 脱毛後の時間経過と DNA 量

毛髪から回収できる DNA 量は、毛髪が抜けた後、時間の経過とともに徐々に減少していく。

ISOHAIR を用いて、抜いた毛髪の毛幹部 4cm を 76 日、57 日、31 日、0 日放置したものから DNA を抽出した。得られた DNA の 1/4 量を使用して、ヒト ミトコンドリア DNA (D ループ領域; 280bp) を PCR にて増幅し、電気泳動を行った。

脱毛後時間が経っていないものの方が増幅量が多く、回収率が高い、あるいは PCR 阻害物質の溶出が少ないと思われる。



M: Marker 5 ( $\phi$  X174/Hinc II digest)  
3% Agarose 21

### <PCR 混合液>

Template DNA	5 $\mu$ l
10 $\times$ Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	33.5 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

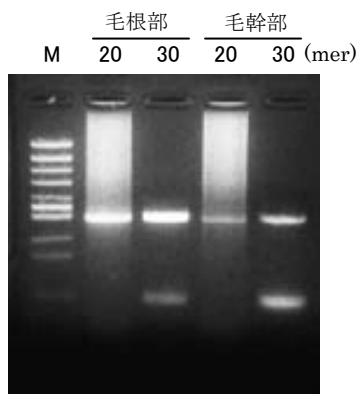
### <PCR 条件>

98 $^{\circ}$ C	1 min.	} 35 cycles
98 $^{\circ}$ C	15 sec.	
60 $^{\circ}$ C	15 sec.	
72 $^{\circ}$ C	30 sec.	
72 $^{\circ}$ C	5 min.	

## PCR 条件

毛髪から抽出される DNA は非常に微量であるため、再現性の高いデータをとるためには PCR の反応条件に細かな配慮が必要である。

ISOHAIR を用いて、毛根部 1cm または毛幹部 6cm より DNA を抽出した。得られた DNA の 1/4 量をテンプレートとし、20mer または 30mer のプライマーを用いて、ヒト ミトコンドリア DNA (D ループ領域; 280bp) を PCR にて増幅し、電気泳動を行った。プライマーを 20mer から 30mer に伸ばすことにより、非特異的な増幅が抑えられた。



M: Marker 5 ( $\phi$  X174/Hinc II digest)  
3% Agarose 21

### <PCR 混合液>

Template DNA	5 $\mu$ l
10 $\times$ Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
<b>20mer</b> primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
<b>20mer</b> primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	0.25 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	33.75 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

### <PCR 条件>

94 $^{\circ}$ C	1 min.	} 40cycles
98 $^{\circ}$ C	15 sec.	
55 $^{\circ}$ C	15 sec.	
72 $^{\circ}$ C	30 sec.	
72 $^{\circ}$ C	5 min.	

Template DNA	5 $\mu$ l
10 $\times$ Gene <i>Taq</i> Universal Buffer	5 $\mu$ l
dNTP mixture (2.5mM each)	4 $\mu$ l
<b>30mer</b> primer-forward (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
<b>30mer</b> primer-reverse (20pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
Gene <i>Taq</i> NT (5units/ $\mu$ l)	0.25 $\mu$ l
H <sub>2</sub> O	33.75 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>50 <math>\mu</math> l</b>

その他の実験例は、ニッポンジーン ホームページ「ISOHAIR」製品ページでもご紹介しております。

実験例一覧：

[ヒトの毛髪を用いた実験例]

- ・ MCT118 型検査

[ヒトの爪を用いた実験例]

- ・ ミトコンドリア DNA の検出
- ・ *p53* 遺伝子の検出
- ・ MCT118 型検査

[マウスの体毛を用いた実験例]

- ・ ミトコンドリア DNA の検出
- ・ *p53* 遺伝子の検出

[マウスの爪を用いた実験例]

- ・ ミトコンドリア DNA および *p53* 遺伝子の検出

など。

株式会社ニッポンジーン WEB ページ

[www.nippongene.com](http://www.nippongene.com)

## VII 参考文献

- 1) Wilson, M. R., Polanskey, D., Butler, J., Dizinno, J. A., Replogle, J. and Budowle, B., *BioTechniques*, 18 (4), 662-669 (1995)
- 2) 笠井賢太郎, 「蛋白質 核酸 酵素」, 41 (5), 738-743 (1996)
- 3) 吉井富夫, 田村一雄, 石山いく夫, 「日法医誌」, 46 (5), 313-316 (1992)
- 4) Higuchi, R., von Beroldingen, C. H., Sensabaugh, G. F. and Erlich, H. A., *NATURE*, 332 (7), 543-546 (1988)
- 5) 吉井富夫, 田村一雄, 谷口高広, 秋山勝則, 石山いく夫, 「日法医誌」, 47 (4), 323-329 (1993)
- 6) Gill, P., Jeffreys, A. J. and Werrett, D. J., *NATURE*, 318 (12), 577-579 (1985)

本品開発にあたり、独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所 小林敬典先生よりご指導いただきました。

## VIII 関連製品

Code No.	製品名	容量
311-90151	Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1)	250 ml
316-90025	TE (pH 8.0)	500 ml
318-90105	Distilled Water, Deionized, Sterile	500 ml
312-01791	Ethachinmate (3M Sodium Acetate 添付)	0.2 ml
316-90081	3M Sodium Acetate	100 ml
318-03231	Gene <i>Taq</i> NT	250 units
318-03253	T4 gene 32 protein	20 $\mu$ g
312-01193	Agarose S	100 g
315-03241	Agarose 21 (スティックタイプ)	3 g $\times$ 25
319-03244	Agarose 21 (ボトルタイプ)	100 g
313-90035	50 $\times$ TAE	500 ml
315-90051	EtBr Solution	10 ml
313-90111	Loading Buffer	10 ml
316-06951	Gene Ladder 100 (0.1-2 kbp)	500 $\mu$ l
317-05261	OneSTEP Marker 2	1500 $\mu$ l
318-05791	OneSTEP Marker 4	375 $\mu$ l
311-05801	OneSTEP Marker 5	375 $\mu$ l
319-00564	Marker 2 ( $\lambda$ /HindIII $\cdot$ EcoRI double digest)	80 $\mu$ g
315-00664	Marker 4 ( $\phi$ X174/HaeIII digest)	15 $\mu$ g
312-00674	Marker 5 ( $\phi$ X174/Hinc II digest)	15 $\mu$ g
314-04431	ISOHAIR Jr.	30 回分

その他の製品や、最新の製品仕様、希望納入価格については、ニッポンジーンの WEB ページをご参照ください。

株式会社ニッポンジーン  
研究試薬部 学術営業課

---

TEL (076) 451-6548  
[www.nippongene.com](http://www.nippongene.com)

<1307-1807>