

FastGene™

ゲノムDNA抽出キット (植物)

Cat.No. FG-GD050P



目次

製品説明.....	2
製品内容.....	2
製品仕様	3
必要な試薬及び器具	3
スピнкаラム使用上の注意事項	3
DNA 抽出プロトコルの簡易フロー.....	4
トラブルシューティング.....	6
保存及びその他の注意.....	7
保証期間.....	7

製品説明

本製品は均一な連続孔を持つディスク型シリカモノリスを固定したモノリス固相スピнкаラムで、DNAがシリカゲルに吸着する特性を利用して植物の葉からゲノムDNA抽出を行います。本製品を使用することで、植物の葉からゲノムDNAを高効率で抽出できます。また不純物の除去率が高く、抽出したDNA溶液中に無機塩類がほとんど含まれていないことも本製品の特徴です。本製品で抽出されたゲノムDNAは、高効率のPCR増幅を可能とします。FastGene™ ゲノムDNA抽出キット（植物）の性能を十分に発揮させるため、本取扱説明書をよくお読みの上、正しくお使いください。

製品内容

本製品を受け取りましたら、梱包内容、スピнкаラムの外観、数量、Buffer等に異常がないか確認してください。内容違い、数量違い、スピнкаラムの外観等に異常がありましたら、すみやかに弊社へご連絡ください。

内容	容量
スピнкаラム（FastGene Plant Column）	50本×1袋
Plant Buffer P1（溶解）	28 mL
Plant Buffer P2（変性）	9 mL
Plant Buffer P3（吸着）	28 mL
Plant Buffer P4（洗浄） ^{*1}	28 mL
Plant Buffer P5（溶出） ^{*2}	6 mL

* 溶出液を回収するチューブは付属していません。別途 1.5 mL～2.0 mL の滅菌済み遠心チューブを用意してください。

*1 Plant Buffer P4には、揮発性の高いエタノールが含まれています。ご使用後は、蒸発を防ぐために必ず蓋を閉めてください。

*2 Plant Buffer P5は、10 mM Tris-HCl, 0.5 mM EDTA (pH 8.5) です。

製品仕様

	植物葉からのDNA抽出
操作時間	10 分間～
最大DNA結合量	～50 µg
溶出量	10～100 µL
推奨処理量	～200 mg
DNAの純度	A260/A280≒1.7～ 2.1

必要な試薬及び器具

- ① FastGene™ ゲノムDNA抽出キット (植物)
- ② 1.5 mL～2.0 mL 滅菌済み遠心チューブ
- ③ 植物破碎粉末機
- ④ 高速マイクロ遠心機 (20,000 × g (15,000 rpm)の遠心が可能なもの) *
- ⑤ ボルテックスミキサー (2,500 rpm 程度の攪拌ができるもの)
- ⑥ マイクロピペット、マイクロピペット用チップ

* 遠心機によっては使用できないケースがありますので、遠心機の仕様をご確認の上、使用してください。

また本書での以下の基本計算式をもとに相対遠心加速度 (× g) と回転数 (rpm)を算出しております。

ローターの回転半径は、遠心機によって変わりますので、遠心機取扱説明書のローター仕様ページをご確認ください。

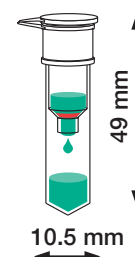
基本計算式

$$RCF = 1.118 \times R \times N^2 \times 10^{-6}$$

RCF : 相対遠心加速度 (× g) R : 回転半径 (mm) N : 回転数 (rpm)

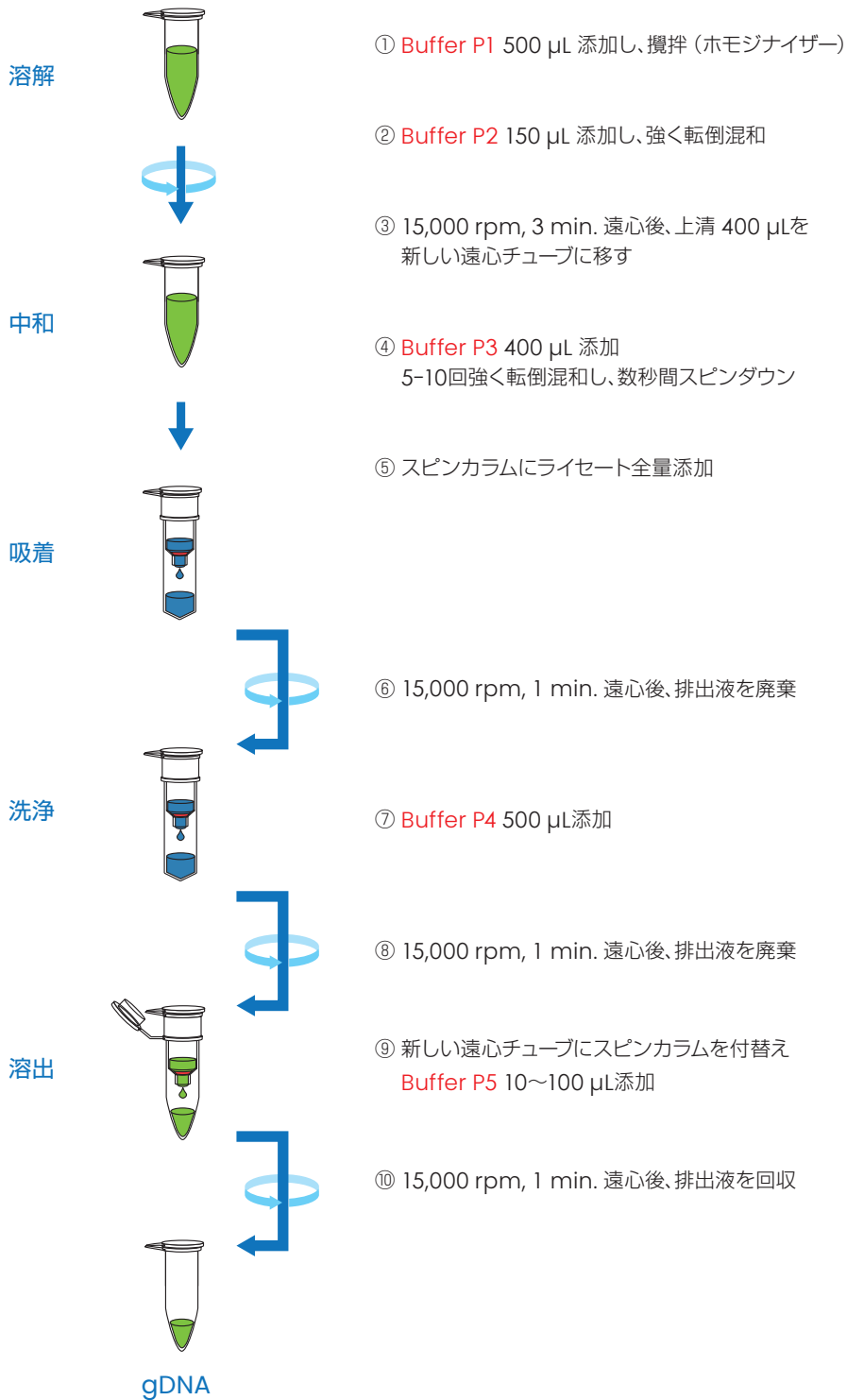
スピнкаラム使用上の注意事項

- スピнкаラムを落としたり、ぶつけたりしないでください。強い衝撃を与えるとシリカモリスが割れることがあります。
- オートクレーブ処理を行う場合には、110℃以下、20 分以内で行ってください。
- スピнкаラムは従来のタイプより通液抵抗が小さくなっておりますので、液の流出を止める場合にはスピнкаラムの蓋を閉めてください。
- 遠心機を用いる場合は、チューブ類が装置の蓋などに接触しない事を確認の上で使用ください。サイズは右図をご参照ください。
- 遠心操作は、すべて室温 (15℃ ~ 25℃)で行ってください。
- 遠心操作時はスピнкаラムの蓋を閉めた状態で使用してください。蓋を閉めた状態では、スピнкаラム内が陰圧になるため、スムーズに通液されない場合には、スピнкаラムの蓋を開けてください。
- 精製 DNA を分子生物学的操作に用いる場合には、十分に滅菌された容器や滅菌水などを用いてください。
- 本製品は消耗品ですので、再使用はできません。
- ご所属の機関の倫理委員会の規定に従い作業してください。また、カラムの廃棄の際には、各施設の規定に従って処理を行ってください。
- 余ったBufferは、安全データシート (SDS)に記載された通り廃棄ください。



DNA 抽出プロトコルの簡易フロー

植物片を液体窒素で粉碎する
粉末サンプル ~200 mgを遠心チューブに入れる



〈操作手順〉

工程①：各種植物葉粉末サンプルを準備します。

植物葉 ~ 200 mg粉末サンプルを遠心チューブに入れます。

Plant Buffer P1を500 µL添加し、攪拌混合（ボルテックス）します。

注）植物量が多すぎる場合、カラムの目詰まり、回収量減少、精度低下の可能性があります。目詰りした場合は、量を減らしてください。また、サンプル量が多い場合は、Plant Buffer P1の量を500 µLから600 µLに変更します。

工程②：Plant Buffer P2を150 µL添加後、激しく転倒混和します。

工程③：20,000 × g（15,000 rpm）、3分間遠心し、上清400 µLを新しい遠心チューブに移します。

工程④：Plant Buffer P3を400 µL添加し、5-10回強く転倒混和します。数秒間スピンドウンして、キャップや壁についた液を収集します。

注）混和が不十分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。

ライセート完成後は、速やかに抽出操作を行ってください。

工程⑤：ライセートを数回ピペッティングし、スピнкаラムに全量添加してください。

工程⑥：スピнкаラムを、20,000 × g（15,000 rpm）にて1分間遠心します。遠心機からスピнкаラムとコレクションチューブを注意深く取り出します。

コレクションチューブ内の排出液を捨て、スピнкаラムに再装着してください。

注）サンプルによっては凝集物ができることがありますが、凝集物ごとすべてスピнкаラムへ添加してください。

遠心後ライセートがカラム内に残っている場合、最高速度で再度遠心操作を行ってください。遠心操作で液が完全に通過しない場合は、スピнкаラムの蓋を開けて遠心してください。

工程⑦：注意深くスピнкаラムの蓋を開け、Plant Buffer P4を500 µL添加してください。

工程⑧：スピнкаラムを、20,000 × g（15,000 rpm）にて1分間遠心します。遠心機からスピнкаラムとコレクションチューブを注意深く取り出します。排出液の入ったコレクションチューブを捨ててください。

注）遠心後 Plant Buffer P4がスピнкаラム内に残っている場合、最高速度で再度遠心操作を行ってください。または、スピнкаラムの蓋を開けて遠心してください。

注）Plant Buffer P4が残留すると、回収率が悪くなる場合がありますので注意してください。また、溶出液に混入すると、PCR阻害が生じることがあります。

工程⑨：スピнкаラムを新しい遠心チューブにのせかえます。注意深くスピнкаラムの蓋を開け、Plant Buffer P5を10~100 µL、モノリス表面の中央に添加してください。

工程⑩：20,000 × g（15,000 rpm）で1分間遠心し、溶出します。遠心機からスピнкаラムと遠心チューブを注意深く取り出し、スピнкаラムを捨てます。

以上で植物のゲノムDNA抽出は完了です。

注）スピнкаラムに添加したPlant Buffer P5は、ほぼ全量が回収されます。

注）回収したゲノムDNAをすぐに使用しない場合は、回収容器のキャップをしっかりと閉めた後、-20℃で保存することをお勧めします。

注）本製品に同封されているPlant Buffer P5は、RNase・DNase フリー滅菌水に置き換えることができます。その場合、pHにより回収率が変動するため、アンモニア水や水酸化カリウムなどでpH 8.5~9.0に調整してご使用ください。

〈植物に関する注意事項〉

- ① あらかじめ、植物葉を液体窒素中で、乳鉢乳棒等を使用して破砕し、粉末状態にしてください。粉末状態にした植物葉は、50 mLファルコンチューブ等に入れ、凍結保存、繰り返し使用できます。
- ② 植物を破砕粉末状態にしないと、DNAの回収量が減少することがありますので、十分に粉砕処理してください。
- ③ 処理可能量を超えた植物葉をオーバーロードしてしまうと、スピнкаラムの性能が低下し、最悪の場合、スピнкаラムの目詰まりを引き起こします。

〈使用に関する注意事項〉

- ① 所定量のPlant Buffer P1を使用してください。試薬の容量は抽出プロトコルに記載された量を厳守してください。
- ② コンタミネーションを防ぐために毎回ピペットチップを交換してください。
- ③ 遠心後、遠心機からスピнкаラムとコレクションチューブを取り外す際は、排出液がスピнкаラム先端に付着しないよう注意深く取り外してください。付着した場合は軽くスピンドウンを行ってください。
- ④ 遠心機内の温度が上昇するのを防ぐため、遠心機の連続運転は避けてください。
- ⑤ 抽出の途中では時間をおかず、操作は速やかに行ってください。
- ⑥ 感染性的おそれのあるサンプルを使用した場合、廃棄物は感染性産業廃棄物に該当しますので、適切な処理を行ってください。
- ⑦ 本製品は植物中のゲノムDNAを抽出するためのキットで、その他の目的にはご使用になれません。

トラブルシューティング

トラブル	予想原因	対処法
DNA回収量が少ない	サンプルとPlant Buffer P1の混和が不十分なためにサンプルの溶解が不完全	サンプルに加えたPlant Buffer P1の量を確認する サンプル量が多い場合は、添加するPlant Buffer P1の量を調整する 新しいサンプルで再度DNA抽出を行う
	Plant Buffer P1中でのサンプルの溶解や変性が不完全	サンプルが完全に溶解したかを確認する 新しいサンプルで再度DNA抽出を行う
	溶解後にPlant Buffer P2を添加していない	Plant Buffer P2 150 μ L を正確に添加したか確認する 新しいサンプルで再度DNA抽出を行う
	スピncラムにロードする前にPlant Buffer P3を添加していない	Plant Buffer P3 400 μ L を正確に添加したか確認する 新しいサンプルで再度DNA抽出を行う
	DNAの溶出が効率的でない	Plant Buffer P5を添加する際は、モノリス全体に行き渡るようにモノリス表面の中央部分に添加する 溶出効率を高めるため、スピncラムにPlant Buffer P5あるいは精製水をピペットで添加後、遠心操作前に室温でスピncラムを1分間インキュベートする
	Bufferを間違えて使用	各工程に使用するBufferをプロトコルの順序に従って使用したかを確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行う
	多量のPlant Buffer P5で溶出	規定量のPlant Buffer P5で溶出する
抽出・精製した核酸のA260/A280比率が高い	スピncラムにロードする前にPlant Buffer P3を添加していない	Plant Buffer P3 400 μ L を正確に添加したか確認する 新しい試料で再度DNA抽出を行う
	Plant Buffer P1とPlant Buffer P2が残っている、またはPlant Buffer P4による洗浄が不十分	DNA溶液をエタノール沈殿法で精製する
	RNAの残留量が多い	本キットではAmylase, RNase A処理は行わないため、糖やRNAを含まないDNAが必要な場合は、抽出後にRNase A処理を行う RNase A 溶液での処理方法: RNAを除去する場合、溶出液200 μ Lに対し0.5 μ LのRNase A (20 mg/mL) 溶液を入れ、37°Cで15分間インキュベーションする
	溶出液中にPlant Buffer P4が残留、不純物が混入	溶出の前に洗浄ステップを行ったことを確認する スピncラムに Plant Buffer P4 500 μ L を添加後、5分間室温でインキュベートしてから、遠心する

保存及びその他の注意

- 室温（15℃～25℃）で保存してください。
- Plant Buffer P4 には、揮発性の高いエタノールが含まれています。ご使用後は、蒸発を防ぐために必ず蓋をしっかりと閉めてください。
- ゲノムDNA抽出・精製キットは温度変化が小さく、湿気の少ない涼しく清浄な暗所に保管してください。
- ゲノムDNA抽出・精製キットは厳しい品質管理のもとで製造、検査、包装、出荷しておりますが、万一不具合がありましたら弊社までご連絡ください。
- 本製品は植物葉からのゲノム DNA 抽出・精製の目的で製造しております。それ以外の目的での使用および本取扱説明書に基づかない方法では使用しないでください。
- 本試薬キットを使用前に、安全データシート（SDS）の記載内容をご一読ください。
安全データシート（SDS）の詳細は弊社 HP（URL <https://www.n-genetics.com/>）よりダウンロードして入手願います。

保証期間

- 各種 Buffer の保証期間は未開封、室温保存で購入後18か月です。

ゾルーゲル法によるシリカモノリスは、国立大学法人京都大学 曾我直弘先生、中西和樹先生により開発されました。この技術と、ジーエルサイエンス株式会社が所有する製品商標及び特許のライセンスを受けて開発・製造しています。



日本ジェネティクス株式会社 〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階
<https://n-genetics.com> ① info@genetics-n.co.jp ② 03 (3813) 0961 ③ 03 (3813) 0962