



土壌中の DNA 抽出キット

# Soil DNA Isolation Mini Kit

## 目次

基本データ	3
キットの内容	3
重要事項	4
操作	4
トラブルシューティング	7

**\*本製品は研究用です\***





本製品は、土壌試料より DNA を抽出することができます。多糖、有機塩、フェノール化合物など、多くのアプリケーションに影響する阻害物は、本製品の DNA 吸着カラムとバッファーを用いることで、除去することができます。操作は、60 分程度で、精製した DNA は、PCR を含むアプリケーションに使用することができます。

#### ✚ 基本データ

サンプル	結合量	所要時間
0.25-1g 土壌サンプル	30 $\mu$ g	60 分程度

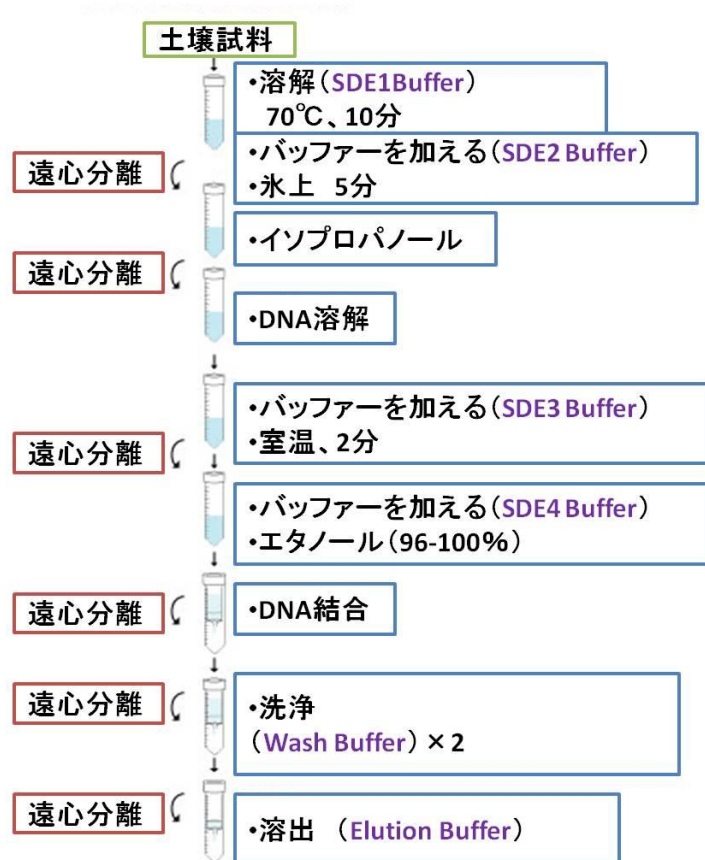
#### ✚ キットの内容

	FASOI 001 (50 preps)	FASOI 001-1 (100 preps)
Glass Beads	12 g	25 g
SDE1 Buffer	40 ml	70 ml
SDE2 Buffer	15 ml	25 ml
SDE3 Buffer	15 ml	30 ml
SDE4 Buffer	25 ml	40 ml
Wash Buffer	20 ml 開封後、エタノール(96-100%) を 80ml 加えてください。	40 ml 開封後、エタノール(96-100%) を 160ml 加えてください。
Elution Buffer	32 ml	35 ml
SDE Mini Column	50 pcs	100 psc
1.5ml Tube (for Elution)	50 pcs	100 pcs
2.0ml Tube (for Collection)	100 pcs	200 pcs
Bead Tube	50 pcs	100 pcs

## 🌈 重要事項

- 1) 取扱時はゴム手袋、白衣を着用してください。
- 2) SDE1 Buffer に沈殿が生じている場合は、60°Cで 10 分間温めてから使用してください。
- 3) Wash Buffer へ 80ml (FASOI 001)/160ml (FASOI 001-1)エタノールを加えてください。
- 4) ウォーターバスを 70°Cに設定してください。
- 5) 遠心分離は、14,000rpm または 10,000 × gで行ってください。
- 6) Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O を 60°Cで温めてから使用してください。

## 🌈 操作



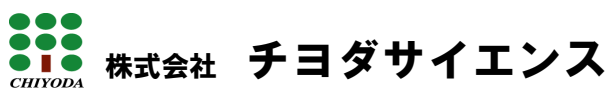
1. 200mg の Glass Beads を 2.0ml の Bead Tube へ加えてください。0.25–1g の土壌サンプルを Glass Beads Tube へ加え、氷上に静置します。  
\* サンプルが液状の場合は 200 $\mu$ l 加えてください。
2. 600 $\mu$ l の SDE1 Buffer をサンプルに加え、5 分間ボルテックスします。その後 70°C で 10 分間インキュベートします。インキュベート中 2 回程度ボルテックスでサンプルを混和してください。  
\* グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、さらに 95°C で 5 分間インキュベートしてください。
3. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
4. サンプルを冷まし、200 $\mu$ l の SDE2 Buffer をサンプルに加えボルテックスし、氷上で 5 分間サンプルをインキュベートします。
5. 5 分間遠心分離 (14,000rpm または 10,000  $\times$  g) します。
6. 上清のみ 1.5ml のチューブ(お客様でご用意ください)へ移し、上清の量を量ってください。ペレットは捨てます。  
\* このときペレットが混入しないようにしてください。
7. 1.5ml チューブへ移したサンプル量と同量のイソプロパノールを加え、ボルテックスでよく混和します。10 分間遠心分離し、DNA をペレット化します。  
例) サンプル量が 450 $\mu$ l の場合は、450 $\mu$  のイソプロパノールを加えてください。
8. 上清を捨て、1 分間ペーパータオルの上にチューブを逆さまに立て、残りの水分を取り除きます。  
\* ペレットに触れないように上清を捨ててください。
9. 200 $\mu$ l の Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O を加え、ボルテックスで DNA を溶解させます。
10. 100 $\mu$ l の SDE3 Buffer をサンプルに加え、ボルテックスで混和します。室温で 2 分間インキュベートしてください。  
\* SDE3 Buffer を使用前にボルテックスでよく混和してください。  
\* SDE3 Buffer を攪拌する際は、1ml のチップの先端を切ってピペティングするとよく攪拌できます。
11. 2 分間遠心分離 (14,000rpm または 10,000  $\times$  g) してください。

12. 上清を 1.5ml のチューブ(お客様でご用意ください。)へ移し、ペレットを捨てます。  
\* ペレットが上清に混入しないようにしてください。
13. <RNA-free genomic DNA を抽出する場合のオプションステップ>  
\* 1 $\mu$  l の RNase A (100mg/ml:お客様でご用意ください)をサンプルに加え、室温で 2 分間インキュベートしてください。
14. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
15. サンプル量と同量の SDE4 Buffer とエタノール(96-100%)を加え、パルスボルテックスで混和します。  
例) サンプル量が 250 $\mu$  l の場合は、250 $\mu$  l の SDE4 Buffer、250 $\mu$  l のエタノール(96-100%)を加えてください。
16. SDE Column を Collection Tube へ取り付け、サンプルをアプライします。1 分間遠心分離(14,000rpm, 10,000  $\times$  g)し、ろ液を捨てます。SDE Column を新しい Collection Tube へ取り付けます。
17. 750 $\mu$  l の Wash Buffer (事前にエタノールを加えてください) を SDE Column へ加え、1分間遠心分離(14,000rpm, 10,000  $\times$  g)し、ろ液を捨てます。この操作をもう一度行ってください。
18. さらに 3 分間遠心分離(14,000rpm, 10,000  $\times$  g)し、SDE Column を乾燥させます。  
\* その後のアプリケーションでの酵素反応を阻害する物質を除去するために重要なステップです。
19. SDE Column を Elution Tube に付け、50-200 $\mu$  l の先に温めておいた Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O を Column の中央にアプライし、2 分間室温で静置します。  
\* 効率よく溶出するために、Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O をカラム膜中央へアプライし、十分吸着させてください。
20. 1 分間遠心分離し、DNA を溶出します。

✚ トラブルシューティング

トラブル	原因	解法
収量が少ない	サンプル量が多い	サンプル量を減らす
	Glass Beads でよく混和していない	ボルテックスをよく行う
	インキュベーション時間が不十分	インキュベーション時間を長くする
	エタノールを加えているか	サンプルを SDE Mini カラムへ加える前にサンプルにエタノールを加える (ステップ 15)
	DNA の溶出が効率よく行われていない	ddH <sub>2</sub> O の pH を 7.5-8.5 へ調整 Elution Buffer を加えた後、カラムを 2 分間室温で放置する
カラムが目詰まりを起こしている	サンプルの上清を移すときにペレットを含んでいる	ペレットが混入しないようにする
	サンプルの粘度が高い	サンプル量を減らす
その後のアプリケーションがうまくいかない	サンプルが古い	新鮮またはよく管理されて保存したサンプルを使用
	エタノールが残っている	カラムを完全に乾かすために、洗浄ステップ後、3 分間余分に遠心分離 (4,000 × g) を行う
	RNA がコンタミしている	ステップ 13 を行ってください。

日本総代理店



〒101-0044 東京都千代田区岩本町 2-13-11 TEL: 03 (3864) 7701 FAX: 03 (3864) 7752

E-mail: [technical@chiyoda-s.jp](mailto:technical@chiyoda-s.jp)

vol.1004

---

<http://www.chiyoda-s.jp>