



土壌中の DNA 抽出キット

Soil DNA Isolation Midi Kit

目次

基本データ	3
キットの内容	3
重要事項	3
操作	4

* 本製品は研究用です *



本製品は、1-10g の土壌試料より 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、90 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	溶出量
1-10g 土壌サンプル	300 μ g	90 分程度	2ml

アプリケーション: PCR, Real-Time PCR, 感染症の研究

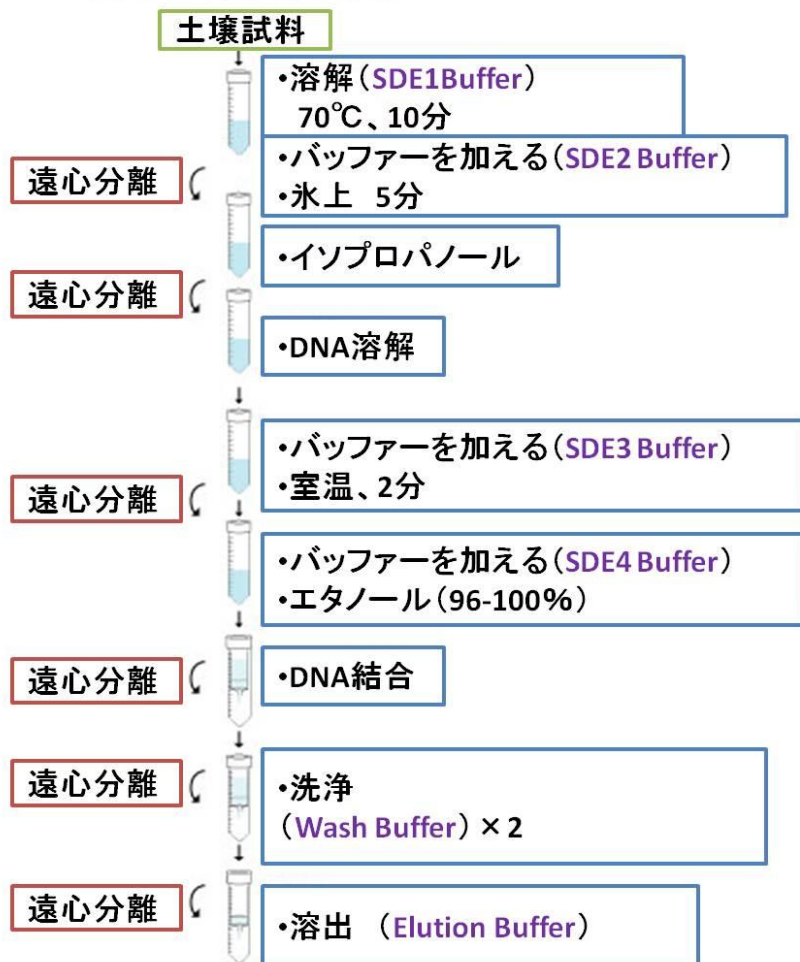
🚩 キットの内容

FASOI 002 (24 preps)	
Glass Beads	55 g
SDE1 Buffer	200 ml \times 2
SDE2 Buffer	135 ml
SDE3 Buffer	30 ml
SDE4 Buffer	85 ml
Wash Buffer	40 ml \times 2 開封後、エタノール(96-100%)を 各ボトルへ 160ml 加えてください。
Elution Buffer	120 ml
SDE Mini Column	24 pcs
1.5ml Tube (for Elution)	24 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 160ml の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) 特に表記のない場合、遠心分離は 14,000rpm または 10,000 \times gで行ってください。
- 6) Elution Buffer または ddH₂O を 60°Cで温めてから使用してください。

操作

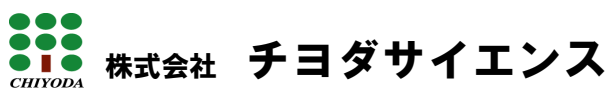


1. 10g の土壌サンプルを 50ml チューブ (お客様でご用意ください) へ加えてください。
2. 2g の Glass Bead を土壌サンプルへ加えよく混和します。
3. 15ml の SDE1 Buffer をサンプルに加え、5 分間ボルテックスします。その後 70°C で 10 分間インキュベートします。インキュベート中 2 回程度ボルテックスでサンプルを混和してください。
* グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、さらに 95°C で 5 分間インキュベートしてください。
4. サンプルを冷まし、5ml の SDE2 Buffer をサンプルに加えボルテックスし、氷上で 5 分間サンプルをインキュベートします。
5. 室温 2,500 × g で 5 分間遠心分離します。

6. 上清のみ 50ml のチューブ(お客様でご用意ください)へ量を量り、移します。
* ペレットが混入しないようにしてください。
7. 50ml 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。4°C、15,000 × g で 30 分間遠心分離し、DNA を沈殿させます。
例) サンプル量が 12ml の場合は、12ml のイソプロパノールを加えてください。
8. 上清を捨て、ペーパータオルの上にチューブを逆さまに立て、5 分間静置し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. 2ml の温めた Elution Buffer または ddH₂O を加え、DNA を溶解させます。
10. 1ml 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 3 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. 室温 2,500 × g で 5 分間遠心分離してください。
12. 上清を 15ml または 50ml チューブ(お客様でご用意ください。)へ量を量り、移します。
* 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>
* 4μ 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. 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 2.5ml の場合は、2.5ml の SDE4 Buffer、2.5ml のエタノール(96-100%)を加えてください。
15. SDE Midi Column を 50ml チューブへ取り付け、サンプル溶液を加えます。
16. 室温 2,500 × g で 2 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。SDE Midi Column を 50ml チューブへ戻します。

17. 7ml の Wash Buffer (事前にエタノールを加えてください) を SDE Midi Column へ加え、 $2,500 \times g$ で 2 分間遠心分離し、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 $2,500-4,000 \times g$ で 10 分間遠心分離し、SDE Midi 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 Midi Column を 50ml チューブ (Elution Tube) に付け、1-2ml の先に温めておいた Elution Buffer または ddH₂O を Column の中央にアプライし、5 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 ddH₂O 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. $2,500 \times g$ で 2 分間遠心分離し、DNA を溶出します。

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

vol.0905

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