

## Genomic DNA Extraction Kit Mini (Plant)

Cat. No. YGP50  
50 ミニプレップ

GP1 Buffer: 25ml  
 GPX1 Buffer: 25ml  
 GP2 Buffer: 6ml  
 GP3 Buffer: 15ml \*  
 W1 Buffer: 25ml  
 Wash Buffer (conc.): 25ml \*\*  
 Elution Buffer: 30ml  
 RNase A (10mg/ml): 275µl  
 GD Column: 50 本  
 Filter Column: 50 本  
 2ml Collection Tube: 100 本

Cat. No. YGP100  
100 ミニプレップ

GP1 Buffer: 50ml  
 GPX1 Buffer: 50ml  
 GP2 Buffer: 15ml  
 GP3 Buffer: 30ml \*  
 W1 Buffer: 50ml  
 Wash Buffer (conc.): 25ml \*\*  
 Elution Buffer: 30ml  
 RNase A (10mg/ml): 550µl  
 GD Column: 100 本  
 Filter Column: 100 本  
 2ml Collection Tube: 200 本



対象サンプル: 植物組織 1g  
 収量: 300µg  
 所要時間: 60 分以内  
 溶出量: 50µl

\* 初めにご使用になる前に、GP3 Buffer に 2 倍量のイソプロパノールを加えてください。

\*\* 初めにご使用になる前に、Wash Buffer に 4 倍量のエタノール (96~100%) を加えてください。

追加でご用意いただくもの: 液体窒素、すり鉢、1.5ml エッペンチューブ、エタノール (96~100%)、イソプロパノール

GD Column: メンブレンと一体化した蓋付きカラム (緑色)  
 Filter Column: フィルターと一体化した蓋付きカラム (白色)  
 2ml Collection Tube: 蓋の無い樹脂製チューブ

1

## デュオ・バッファー・システム: 二種類の緩衝液の使用について

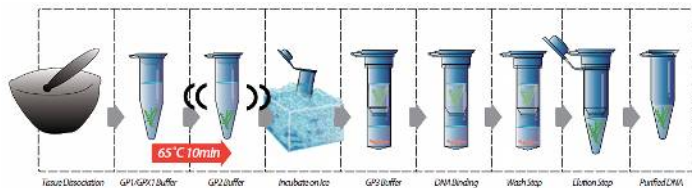
植物種は代謝産物において極めて多様です。多量の多糖類、炭水化物、脂質、ポリフェノール、タンパク質が植物組織中に含まれていると考えられます。これらの化合物の存在により、DNA 結合及び DNA 抽出が妨げられる場合があります。このような植物の特性を考慮して、本製品は、植物サンプルの種類に応じて最適な性能を実現するよう、二種類の緩衝液を使い分ける方式を採用しています。

## GP1 Buffer:

標準プロトコールでは、植物サンプルを溶解するために GP1 Buffer を使用します。この GP1 Buffer を用いてほとんどの一般的な植物種から高品質の DNA を高収率で抽出することができます。

## GPX1 Buffer:

GPX1 Buffer も本製品に付属しています。GPX1 Buffer には、より効果的に多量の多糖類を取り除くことが可能な界面活性剤が含まれています。多くの植物種においては、どちらの緩衝液も同等の性能を示します。初めて使用する組織の場合は、どちらか一方の緩衝液から、あるいは両方の緩衝液を同時にお試ください。



組織の解離 → GP1/GPX1 Buffer 添加 → GP2 Buffer 添加 → インキュベーション

→ GP3 Buffer 添加 → DNA 結合 → 洗浄 → DNA 溶出 → 精製 DNA

3

## Genomic DNA Extraction Kit Mini (Plant)

## 概要

Genomic DNA Extraction Kit Mini (Plant) デュオ・バッファー・システムは、植物組織や植物細胞などから、迅速かつ容易に DNA を単離することができるキットです。本製品では二種類の緩衝液を試料に合わせて使い分ける方式を採用しています。

まず、サンプルをホモジナイズすることにより溶解させます。次に溶解物を RNase A で処理し、RNA を取り除きます。カオトロピック塩の存在下で、溶解物中のゲノミック DNA はスピナラム内のグラスファイバー充填材に結合します。不純物をエタノール含有洗浄緩衝液で洗い流した後、低塩濃度の溶出緩衝液または水を加えることにより、精製されたゲノミック DNA が溶出されます。

フェノール抽出やアルコール沈殿などの処理は必要ありません。60 分以内の一連のプロセスが完了します。

## 用途

PCR、サザン・ブロッティング、RAPD/AFLP

## 品質管理

Genomic DNA Extraction Kit Mini (Plant) はロット毎に、若葉 100mg からゲノミック DNA を単離する方法で、品質試験を行っています。

参考文献 (1) Vogelstein, B., and Gillespie, D. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 615.

注意事項 (1) 本製品は研究用です。診断用・治療用にはご使用にならないようお願い致します。

(2) Buffer は、刺激性があり有害な塩酸グアニジン含有物を含んでいます。ご使用中は必ず、白衣、使い捨ての手袋、防護用眼鏡を着用してください。

2

## Genomic DNA Extraction Kit Mini (Plant)

## プロトコール

## 組織の解離

- 新鮮な、または、冷凍保存の植物組織 50mg (最大 100mg まで)、あるいは、乾燥した植物サンプル 5mg (最大 100mg まで) を切り取る。
- 液体窒素の入ったすり鉢に切り取ったサンプルを入れ、すりこぎで粉末状になるまですりつぶす。(植物サンプルによっては、すりつぶす際に液体窒素が不要な場合があります。)
- 2 の均質化されたサンプルをエッペンチューブに移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)

## 溶解

- GP1 Buffer (あるいは GPX1 Buffer) 400µl と RNase A (10mg/ml) 5µl をチューブに加え、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。GP1 Buffer (あるいは GPX1 Buffer) と RNase A を使用前に混ぜ合わせることはしないでください。
- 65°C で 10 分間インキュベートする。インキュベーション中、5 分毎に、チューブをひっくり返す方法で混ぜ合わせる。

※ この時点で Elution Buffer (1 サンプルあたり 200µl) を 65°C で温めてください。

- GP2 Buffer 100µl を加え、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。
- 氷の上で 3 分間インキュベートする。Filter Column を Collection Tube 内に設置し、サンプル溶液を全てカラム充填材に加える。
- 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 3 分間かける。
- Filter Column を捨て、Collection Tube 内の上澄み液を新しいエッペンチューブに注意深く移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)

## DNA 結合

- 透明な溶液に 1.5 倍量の (イソプロパノールで薄めた) GP3 Buffer を加え、すぐに、ボルテックスに 5 秒間かけて混ぜ合わせる。(例えば、溶液 500µl に GP3 Buffer 750µl を加える。)
- GD Column を Collection Tube 内に設置する。
- 10 の溶液 (沈殿物も含む) 700µl を GD Column に加える。
- 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 2 分間かける。
- Collection Tube 内の排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。
- 残りの溶液に対して、12~14 の処理を繰り返す。
- Collection Tube 内の排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。

4

洗浄

17. GD Column に W1 Buffer 400µl を加える。
18. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 30 秒間かける。
19. 排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。
20. GD Column に (エタノールで薄めた) Wash Buffer 600µl を加える。
21. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 30 秒間かける。
22. 排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。
23. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 3 分間かけて、カラム充填材を乾かす。

付加処理：RNA 分解 (残留色素の除去)

カラム充填材に色素が残留している場合は、次の付加処理を行ってください。

- a. 洗浄の処理を行った後、GD Column にエタノール 400µl を加える。
- b. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 30 秒間かける。
- c. 排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。
- d. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 3 分間かけて、カラム充填材を乾かす。70°C でインキュベートした後、RNase A (10mg/ml) 5µl をサンプル溶液に加え、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。(RNase A は追加でご用意下さい。)
- e. 室温で 5 分間インキュベートする。

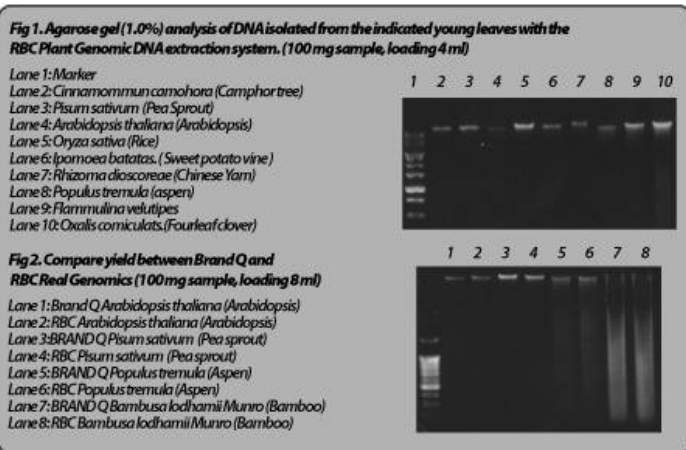
DNA 溶出

標準的な溶出の液量は 100µl です。サンプル量が少ない場合は、DNA 濃度を上げるため液量を (30~50µl まで) 減らしてください。高い DNA 収量が必要な場合、以下の DNA 溶出の処理を繰り返し行ってください。DNA 収量が向上し、DNA 溶出液量は約 200µl になります。

24. 乾いた GD Column を新しい 1.5ml エッペンチューブに移し入れる。(エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)
25. カラム充填材の中央に、温めておいた Elution Buffer 100µl を加える。
26. Elution Buffer が充填材に吸収されるまで 3~5 分間、チューブを立てて置く。
27. 遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 30 秒間かけて、精製された DNA を溶出させる。

トラブルシューティング

問題	考えられる原因と解決策
カラムが詰まる	<p>サンプル容量が多いため、カラムが過負荷になっている サンプル容量を減らすか、複数のチューブに分けて処理を行ってください。</p> <p>DNA 結合の処理において沈殿が生じている サンプル容量を減らしてください。 サンプル溶解物をカラムに加え入れる前に、溶解液中の沈殿物を分散させてください。</p>
収量が少ない	<p>DNA 溶出の処理が不適切 Elution Buffer が GD Column の充填材の中央に加えられ、吸収されていることを確認してください。</p> <p>DNA が完全に溶出されなかった DNA 溶出の処理を 2 回行って、収量を増やしてください。</p>
抽出された DNA を用いたその後の実験がうまくいかない	<p>残留エタノールが混入している 洗浄の処理を行った後、さらに遠心分離機にフルスピードで 5 分間かけるか、60°C で 5 分間インキュベートして、GD Column を乾かしてください。</p> <p>RNA が混入している RNA 分解の処理を追加で行ってください。</p> <p>タンパク質が混入している サンプル容量を減らしてください。 DNA 結合の処理を行った後、GD Column に W1 Buffer を 400µl 加えて洗浄し、遠心分離機に 13,000rpm で 30 秒間かけてから、通常の洗浄の処理を行ってください。</p> <p>ゲノミック DNA が分解している 新鮮な組織サンプルを使用してください。組織サンプルが長期間保存されている間にゲノミック DNA が分解する場合があります。</p>



製品の取扱い方法についてのお問合せは、以下の弊社窓口までご相談ください。

RBC Bioscience 社製品 日本総代理店  
 有限会社 サイトロフ  
 マーケティング営業部

〒113-0031 東京都文京区根津 2-4-2-1 階  
 Tel: 03-5842-1749  
 Fax: 03-5842-1926  
 E-mail: rbc@scitrove.co.jp