

# Genomic DNA Extraction Kit Mini (Tissue)



Cat. No. **YGT50**  
50 ミニプレップ

GT Buffer: 15ml  
GB Buffer: 15ml  
W1 Buffer: 25ml  
Wash Buffer (conc.): 25ml\*  
Elution Buffer: 30ml  
Proteinase K: 11mg\*\*  
GD Column: 50 本  
2ml Collection Tube: 50 本  
Micropestle: 50 本

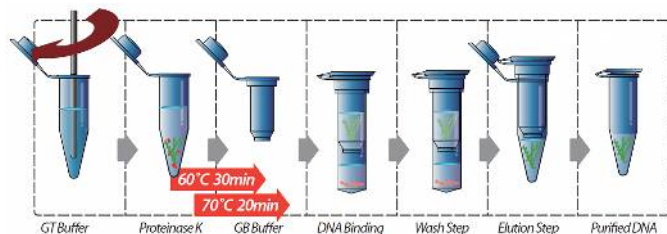
Cat. No. **YGT100**  
100 ミニプレップ

GT Buffer: 30ml  
GB Buffer: 30ml  
W1 Buffer: 50ml  
Wash Buffer (conc.): 25ml\*  
Elution Buffer: 30ml  
Proteinase K: 11mg×2 本\*\*  
GD Column: 100 本  
2ml Collection Tube: 100 本  
Micropestle: 100 本

対象サンプル：組織 20mg、マウス尾部 0.5cm  
プロトコル掲載：組織、パラフィン包埋組織、口腔細胞  
収量：DNA ~50µg  
所要時間：40~60分

\* 初めにご使用になる前に、Wash Bufferに4倍量のエタノールを加えてください。  
\*\* Proteinase K (11mg) のチューブに ddH<sub>2</sub>O を 1.1ml 加えた後、ボルテックスにかけてください。溶解した Proteinase K (10mg/ml) は 4°C で保存してください。長期間保存する場合は、いくつかに分けて -20°C で保存してください。

1



## 組織用プロトコール

追加でご用意いただくもの：エッペンチューブ、エタノール、RNase A (10mg/ml)

### 組織の解離

- 動物性組織を 20mg まで（あるいはマウス尾部を 0.5cm まで）切り取り、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。）脾臓や肝臓など使用する組織の細胞数が多い場合は、サンプル量を 10mg に減らしてください。
- 付属のミニすりこぎを使用して、組織がドロドロになるまですりつぶす。
- GT Buffer 200µl をチューブに加え、さらにサンプル組織をすりつぶしてホモジナイズする。

### 細胞の溶解

- Proteinase K (10mg/ml) 20µl を加え、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。サンプルが溶解するまで、60°C で 30 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。
- GB Buffer 200µl を加え、ボルテックスに 5 秒間かけて混ぜ合わせる。
- サンプル溶解液が透明になるまで、70°C で 20 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 70°C の温水で温めてください。

※ 6 のインキュベーション後、サンプル溶解液中に不溶性物質が見られる場合は、遠心分離機にフルスピード (10,000xg, 13,000rpm) で 2 分間かけて、上澄み液を新しいエッペンチューブに移し入れてください。

3

# Genomic DNA Extraction Kit Mini (Tissue)

## 概要

Genomic DNA Extraction Kit Mini (Tissue) は、様々な動物性組織や動物細胞などから、ゲノミック DNA、ミトコンドリア DNA、ウイルス DNA を含む全 DNA を精製するために設計されました。付属の micropestle (ミニすりこぎ) を使用して、効率的に組織試料をホモジナイズし、溶解を早めることができます。

本製品では、まず、Proteinase K と、カオトロピック塩である塩酸グアニジンを使用して、細胞を溶解させ、タンパク質を分解します。カオトロピック溶液中の DNA は、スピニング中のガラスファイバー充填材に結合されます。不純物を洗い流した後、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 DNA が溶出されます。

本製品を使用して得られた約 20~30kb の精製された DNA は、PCR やその他の酵素反応に適しています。

## 用途

PCR、サザン・ブロッティング、RFLP/AFLP

## 品質管理

Genomic DNA Extraction Kit Mini (Tissue) はロット毎に、マウスの肝臓 10mg 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。

精製されたゲノミック DNA の収量は 10µg 以上あり、A260/A280 比は 1.7~1.9 であることが分光光度計により確認されています。

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しています。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 (Tissue)

## 付加処理：RNA 分解

- RNA フリーのゲノミック DNA が必要な場合は、次の付加処理を行ってください。
- 6 のインキュベーション後、サンプル溶解液に RNase A (10mg/ml) 5µl を加え、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。（RNase A は本製品の付属品ではありません。）
  - 室温で 5 分間インキュベートする。

## DNA 結合

- サンプル溶解液にエタノール 200µl を加え、すぐにボルテックスに 10 秒間かけて混ぜ合わせる。沈殿が見られる場合は、ピペティングをして溶解させる。
- GD Column を Collection Tube 内に設置する。7 の溶液を全て（沈殿物も含む）GD Column に加える。
- 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 2 分間かける。排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。

## 洗浄

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

## 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 (15~50µl 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、溶出量は約 200µl になります。

- 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。）
- カラム充填材の中央に、温めておいた Elution Buffer 100µl を加える。
- Elution Buffer が充填材に吸収されるまで 2 分間、チューブを立てて置く。
- 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 30 秒間かけて、精製された DNA を溶出させる。

4

## パラフィン包埋組織用プロトコール

追加でご用意いただくもの：エッペンチューブ、エタノール、キシレン

## サンプルの前処理

1. パラフィン包埋組織から切片 (25mg まで) をスライスし、エッペンチューブに移し入れる。
2. キシレン 1ml を加える。ボルテックスにかけて充分に混ぜ合わせた後、室温で約 10 分間インキュベートする。インキュベーション中、時々ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。
3. 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 3 分間かける。ピペットで上澄み液を取り除く。
4. エタノール 1ml を加えて細胞ペレットを洗浄し、チューブをひっくり返す方法で混ぜ合わせる。
5. 3~4 の処理を繰り返す。
6. チューブの蓋を開け、37°C で約 15 分間インキュベートし、残留エタノールを蒸発させる。
7. GT Buffer 200µl をチューブに加えた後、組織用プロトコールの細胞の溶解 (4~) 以降の処理を行う。

## 口腔細胞用プロトコール

追加でご用意いただくもの：スワブ (脱脂綿スワブ、DACRON スワブ、または、C.E.P.スワブ)、PBS、エッペンチューブ、エタノール

## サンプルの前処理

1. 頬の内側を各 6~7 回しっかりと擦ってスワブを採取し、空気乾燥させる。(サンプル提供者は、サンプル採取前 30 分以上、何も口にしないようにしてください。)
2. 棒からスワブを剥がす。口腔細胞をエッペンチューブに移し入れ、PBS 500µl を加える。

## 細胞の溶解

3. サンプルに GB Buffer 500µl と Proteinase K (10mg/ml) 20µl を加える。ボルテックスに 5 秒間かけて混ぜ合わせる。
4. 70°C で 20 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。

5

※ この時点で、Elution Buffer (1 サンプルあたり 200µl) を 70°C のウォーターバスで温めてください。

## DNA 結合

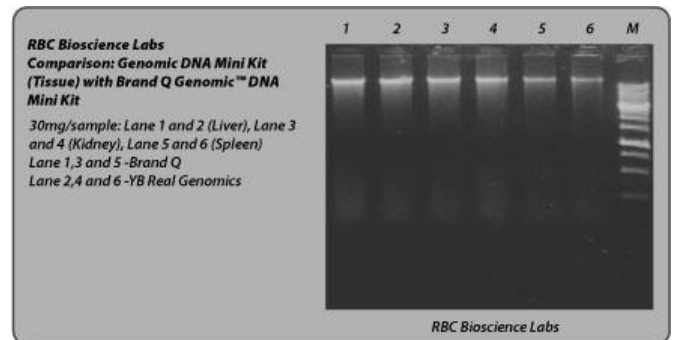
5. サンプル溶解液にエタノール 500µl を加え、すぐに、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。
6. GD Column を Collection Tube 内に設置する。
7. 5 の溶液 700µl を GD Column に加える。
8. 蓋を閉め、遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 1 分間かける。排液を捨て、GD Column を Collection Tube 内に戻す。
9. 残りの溶液についても GD Column に加え、7~8 の処理を繰り返して、DNA をカラムに結合させる。
10. 組織用プロトコールの洗浄 (10~) 以降の処理を行う。

6

## 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>サンプル量が多いため、カラムが過負荷になっている サンプル量を減らすか、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成している サンプル量を減らしてください。 細胞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 注いで洗浄し、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>

## Genomic DNA Extraction Kit Mini (Tissue)



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 サイトローブ  
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

7

8