

コード番号 S1053 (V1.4/1607-170110)

## SureFood PREP Advanced DNA抽出キット 取扱説明書

(CONGEN社製)

(抄訳版:必ず原文をご確認ください。万一、本書の内容が原文と異なる場合は、原文を正とします。なお、仕様・価格は予告無く変更される場合があります。)

### 概説

本キットは、動物又は植物のDNA(デオキシリボ核酸)を抽出するために使用されます。2種類のプロトコルで使用されます。

DNA抽出プロトコル1は、EU規則1169/2011に従ったもので、食品中から動物又は植物DNAを感度良く抽出するためのものです。

DNA抽出プロトコル2は、高度に加工された食品や飼料から植物DNAを抽出するためのものです。さらに、プロトコル1で抽出した場合、PCRを阻害するDNA抽出物を生成する試料にも適用されます。PCR阻害を生じる物質は、追加された結合、精製ステップで効率的に除かれます。

### キット内容と保存

各キットには50試料の調製に必要な試薬が含まれています。

名称	コード <sup>1</sup>	容量x個数
プロテアーゼ K (Proteinase K)	K	x 1
PCRグレード純水 (PCR grade water)	H	1.1mL x 1
溶解バッファー (Lysis Buffer)	L	60mL x 1
結合バッファー (Binding Buffer)	B	10mL x 2
プレ洗浄バッファー (Pre-Wash Buffer)	P	60mL* x 1
洗浄バッファー (Wash Buffer)	W	60mL* x 1
溶出バッファー (Elution Buffer)	E	10mL x 1
溶出バッファー X (Elution Buffer X)	X	10mL x 1
スピンフィルター 緑(Spin Filter,green)	F	50 x 1
スピンフィルター 黄(Spin Filter,yellow)	S	50 x 2
レシーバーチューブ,2.0mL,黄 (Receiver Tube,yellow)	R	50 x 4
レシーバーチューブ,1.5mL,透明 (Receiver Tube,clear)	T	50 x 1

\*エタノール(96%以上、キットには含まれません)添加後の容量。

キットは、2箱で構成されます。

プロテアーゼKは、-20°Cで保存してください。その他の試薬は、室温(14-25°C)で乾燥した場所で保存してください

### キットに含まれない必要なもの

- 試料の粉碎とホモジナイズに適した機器
- マイクロ天秤とスパチュラ(試料の秤量用)
- 反応チューブ 1.5mL,2.0mL (DNA,DNaseフリー)

- 反応チューブラベル用耐水ペンとタグ
- 保護手袋
- フィルターチップ付きピペット
- ボルテックスミキサー
- サーモミキサー/ヒートブロック(65°Cまで)
- マイクロ遠心機(12,000rpm)
- エタノール(96%以上) プレ洗浄、洗浄バッファー調製用
- デスポバッグ又は廃棄容器

### プロトコル1

DNA抽出プロトコル1は、EU規則1169/2011に従ったもので、食品中から動物又は植物DNAを感度良く抽出するためのものです。

#### プロトコル1の概要手順

- 1.試料の準備
- 2.65°Cでの溶解
- 3.プレろ過及び最適結合条件の設定
- 4.スピンフィルターへの核酸の結合
- 5.結合した核酸の精製
- 6.スピンフィルターの乾燥
- 7.スピンフィルターからの核酸の溶出

#### 試薬の調製

- PCRグレード純水(コードH)1mLをプロテアーゼK(コードK)に加え、完全に混合します。
- エタノール30mLをプレ洗浄バッファー(コードP)に加え、完全に混合します。
- エタノール42mLを洗浄バッファー(コードW)に加え、完全に混合します。

#### 事前の準備

- 溶出バッファー(コードE)の予熱: 前もって溶出バッファー(コードE)の必要量を計算してその量を反応チューブ(キットに含まれない)に入れ65°Cで保温します。(溶出バッファーはステップ7で必要となります。)

#### 抽出手順

##### 1. 試料の準備

- 100mg<sup>\*</sup>のホモジナイズした試料を2mLの反応チューブ(キットに含まれない)に入れます。

\* 試料の量は、母材の種類によって異なります。アズマックス株にお尋ねください。

##### 2. 試料の溶解

- その反応チューブに580μLの溶解バッファー(コードL)とプロテアーゼK(コードK)20μLを加えてすこし混合します。連続振とうしながら65°Cで60分間インキュベートします。

注)大きく膨張する試料については、さらに溶解バッファーが必要になる場合があります。

##### 3. プレろ過と最適結合条件の設定

- 溶解した試料液を12,000rpmで1分間遠心分離します。
- 上清を新しい1.5mLの反応チューブ(キットに含まれない)に入れ再び12,000rpmで1分間遠心分離します。
- 緑色のスピンフィルター(コードF: 緑、プレろ過用)を黄色色の2.0mLのレシーバー・チューブ(コードR)に取付けます。二度目の遠心分離による上清液、400μLをスピンフィルターに直接、移します。
- スピンフィルターを取り付けたレシーバー・チューブを12,000rpmで1分間遠心分離します。遠心分離の後、スピンフィルターは廃棄して下さい。

#### 4. スピンフィルターへの核酸の結合

- 250μLのバインディング・バッファー(コードB)をろ液に入れて、混合します。
- 黄色のスピンフィルター(コードS: 結合用)を黄色色の2.0mLのレシーバー・チューブ(コードR)に取付け、すべての液をスピンフィルターに入れます。室温で1分間静置します。
- 12,000rpmで1分間遠心分離します。(訳者注: DNAは不溶化してフィルターに残ります。)ろ液は廃棄します。そのスピンフィルターを新しい黄色色のレシーバー・チューブ(コードR)に取付けます。

#### 5. 結合した核酸の精製

- 550μLのプレ洗浄バッファー(コードP)をそのスピンフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、生じた濾液を捨てスピンフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。
- 550μLの洗浄バッファー(コードW)をそのスピンフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、濾液を捨てます。スピンフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。
- 再度、550μLの洗浄バッファー(コードW)をそのスピンフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、濾液を捨てます。スピンフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

#### 6. スピンフィルターの乾燥

- スピンフィルターから洗浄バッファー中のエタノールを完全に除くために、2分間12,000rpmで遠心分離します。

#### 7. スピンフィルターからの核酸の溶出

- スピンフィルターを1.5mL容の透明のレシーバー・チューブ(コードT)に取付け、あらかじめ65°Cに加熱しておいた溶出バッファー(コードE) 50μLを添加します。3分間65°Cでインキュベートします。
- 1分間10,000rpmで遠心分離します。遠心分離の後、そのスピンフィルターを廃棄して下さい。
- 溶出されたDNAはそのままPCRにかけられます。そのDNAは4°Cで24時間、保存できます。24時間以上保存するためには必ず-20°Cを維持してください。

#### プロトコル2

DNA抽出プロトコル2は、高度に加工された食品や飼料から植物DNAを抽出するためのものです。さらに、プロトコル1で抽出した場合、PCRを阻害するDNA抽出物を生成する試料にも適用されます。PCR阻害を生じる物質は、追加された結合、精製ステップで効率的に除かれます。

#### プロトコル2の概要手順

1. 試料の準備
2. 65°Cでの溶解
3. プレろ過及び最適結合条件の設定

4. スピンフィルターへの核酸の結合
5. 結合した核酸の精製
6. スピンフィルターの乾燥
7. スピンフィルターから核酸の1回目の溶出
8. 最適結合条件の再設定
9. スピンフィルターへの核酸の2回目の結合
10. 結合した核酸の2回目の精製
11. スピンフィルターの乾燥
12. スピンフィルターから核酸の溶出

#### 試薬の調製

- PCRグレード純水(コードH)1mLをプロテアーゼK(コードK)に加え、完全に混合します。
- エタノール30mLをプレ洗浄バッファー(コードP)に加え、完全に混合します。
- エタノール42mLを洗浄バッファー(コードW)に加え、完全に混合します。

#### 事前の準備

- 溶出バッファーX(コードX)と溶出バッファー(コードE)の予熱: 前もって溶出バッファーX(コードX)と溶出バッファー(コードE)の必要量を計算してその量を反応チューブ(キットに含まれない)に入れ65°Cで保温します。溶出バッファーX(コードX)はステップ7で、溶出バッファー(コードE)はステップ12で必要となります。

#### 抽出手順

##### 1. 試料の準備

- 150mg\*のホモジナイズした試料を2mLの反応チューブ(キットに含まれない)に入れます。

\* 試料の量は、母材の種類によって異なります。アズマックス(株)にお尋ねください。

##### 2. 試料の溶解

- その反応チューブに580μLの溶解バッファー(コードL)とプロテアーゼK(コードK)20μLを加えてすこし混合します。連続振とうしながら65°Cで30分間インキュベートします。
- 注) 大きく膨張する試料については、さらに溶解バッファーが必要になる場合があります。

##### 3. プレろ過と最適結合条件の設定

- 溶解した試料液を12,000rpmで1分間遠心分離します。
- 緑色のスピンフィルター(コードF: 緑、プレろ過用)を黄色色の2.0mLのレシーバー・チューブ(コードR)に取付けます。遠心分離された上清液、400μLをスピンフィルターに直接、移します。
- スピンフィルターを取り付けたレシーバー・チューブを12,000rpmで1分間遠心分離します。遠心分離の後、スピンフィルターは廃棄して下さい。

##### 4. スピンフィルターへの核酸の結合

- 250μLのバインディング・バッファー(コードB)をろ液に入れて、混合します。
- 黄色のスピンフィルター(コードS: 結合用)を黄色色の2.0mLのレシーバー・チューブ(コードR)に取付け、すべての液をスピンフィルターに入れます。室温で1分間静置します。

- 12,000rpmで1分間遠心分離します。(訳者注:DNAは不溶化してフィルターに残ります。)ろ液は廃棄します。スピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

#### 5. 結合した核酸の精製

- 550 $\mu$ Lのプレ洗浄バッファー(コードP)をそのスピフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、生じた濾液を捨てスピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

- 550 $\mu$ Lの洗浄バッファー(コードW)をそのスピフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、濾液を捨てます。スピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

#### 6. スピフィルターの乾燥

- スピフィルターから洗浄バッファー中のエタノールを完全に除くために、2分間12,000rpmで遠心分離します。

#### 7. スピフィルターからの核酸の溶出

- スピフィルターを2.0mL容の黄色のレシーバー・チューブ(コードR)に取付け、あらかじめ65 $^{\circ}$ Cに加熱しておいた溶出バッファーX(コードX) 200 $\mu$ Lを添加します。3分間65 $^{\circ}$ Cでインキュベートします。

- 1分間10,000rpmで遠心分離します。遠心分離の後には、そのスピフィルターを廃棄して下さい。

#### 8. 適結合条件の再設定

- ステップ7で得られた200 $\mu$ Lのろ液に、溶解バッファー(コードL)200 $\mu$ Lと結合バッファー200 $\mu$ Lを加えよく混合します。

#### 9. スピフィルターへの核酸の2回目の結合

- 黄色のスピフィルター(コードS: 結合用)を黄色の2.0mLのレシーバー・チューブ(コードR)に取付け、ステップ8のすべての液をスピフィルターに入れます。室温で1分間静置します。

- 12,000rpmで1分間遠心分離します。(訳者注:DNAは不溶化してフィルターに残ります。)ろ液は廃棄します。スピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

#### 10. 結合した核酸の2回目の精製

- 550 $\mu$ Lのプレ洗浄バッファー(コードP)をそのスピフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、生じた濾液を捨てスピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

- 550 $\mu$ Lの洗浄バッファー(コードW)をそのスピフィルターに入れ1分間12,000rpmで遠心分離し、濾液を捨てます。スピフィルターを元のレシーバー・チューブに戻します。

#### 11. スピフィルターの乾燥

- スピフィルターから洗浄バッファー中のエタノールを完全に除くために、2分間12,000rpmで遠心分離します。

#### 12. スピフィルターから核酸の溶出

- スピフィルターを1.5mL容の透明のレシーバー・チューブ(コードT)に取付け、あらかじめ65 $^{\circ}$ Cに加熱しておいた溶出バッファー(コードE) 50 $\mu$ Lを添加します。3分間65 $^{\circ}$ Cでインキュベートします。

- 1分間10,000rpmで遠心分離します。遠心分離の後には、そのスピフィルターを廃棄して下さい。

注:DNAの収量によっては、より多くの溶出バッファー(100-200 $\mu$ L)で溶出可能です。

- 溶出されたDNAはそのままPCRにかけられます。そのDNAは4 $^{\circ}$ Cで24時間、保存できます。24時間以上保存するためには必ず-20 $^{\circ}$ Cを維持してください。

その他、各種アプリケーションノートについては、アズマックス株式会社にお問い合わせください。

本キットはドイツCONGEN Biotechnologie GmbH社の製品で、r-Biopharm社が販売元で、アズマックス株式が輸入・国内販売しています。

なお御不明な点がございましたら下記にご連絡ください。

#### 輸入・販売元：アズマックス株式会社

〒290-0044 千葉県市原市玉前西1-6-13

#### ご注文・お問合せ：アズマックス株式会社東京営業所

〒103-0025東京都中央区日本橋茅場町3-2-10鉄鋼会館5F

TEL 03-6661-1090 FAX 03-6661-1091 [sales@azmax.co.jp](mailto:sales@azmax.co.jp)

#### ご注意

●吸飲したり、皮膚と接触したりすると有害である試薬類が含まれています。

●使用前に、取扱説明書等をよくお読みいただき、注意事項をお守りください。

●責任ある管理者の指導のもとに、保護手袋、保護メガネ等を着用して取り扱ってください

●開封後は、各容器を密閉し、取扱説明書とともに保管してください。

●廃棄する場合には、衛生面、環境面に十分配慮し、法規を遵守してください。

●身体に異常を感じた場合は、ただちに医師の手当を受けてください。

●テスト結果の判断と運用はすべてお客様自身の責任で行ってください。

保証について

アズマックス株式会社は、販売製造後1年以内あるいは記載有効期限のいずれか短い期間内に、キット添付の取扱説明書に基づき使用された場合において、製造物流保管等作業の不具合等による部材等の瑕疵に対してのみ補償いたします。

取扱説明書、ユーザーガイド、検査手順およびアプリケーションは、購入者のためのガイドラインとしてのみを目的として作成されており、各検査手順やそれぞれのアプリケーションにおいての妥当性を、自ら検証していただくようお願いいたします。テスト結果の判断と運用はすべてお客様自身の責任によるもので、この商品の使用によるすべての直接的および間接的な結果としての経済的損失や財産の損害などあらゆる損害に対し、明示的にもあるいは暗示的にも、一切補償するものではありません。また、なんら特定目的への適合性や商品性の保証も致していません。補償に関する唯一の義務は、有効期限内において作業の不具合等による部材等の瑕疵が証明され弊社にすみやかに告知された場合のみであり、購入品あるいはその一部に対し、交換か返金がなされず。