

研究用

TaKaRa

MightyPrep reagent for DNA

説明書

MightyPrep reagent for DNA は、マウス尾などの動物組織や植物組織、血液、加工食品、土壌、菌体等から、簡便に高収量で PCR の鋳型 DNA を調製するための試薬です。本試薬を試料に添加し、インキュベーション後に遠心するだけの簡単な操作で、DNA 抽出液の調製が可能です。得られた抽出液を直接クルードサンプル対応の PCR 試薬、MightyAmp® DNA Polymerase Ver.3 (製品コード R076A/B) や Tks Gflex™ DNA Polymerase (製品コード R060A/B) 用の鋳型として使用することで、非常に高い成功率で PCR 増幅産物を得ることができます。また、各種微生物からも効率よく DNA を抽出できるため、Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800) (製品コード RR182A) や Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast (製品コード RR183A) と組み合わせて迅速に増幅産物を得ることができます。

I. 内容

MightyPrep reagent for DNA 10 ml × 2 本

【本製品以外に必要なもの (主なもの)】

- ・ヒートブロック (95℃設定で使用可能なもの)
- ・微量高速遠心機
- ・ボルテックス

II. 保存 4℃

III. 注意事項

試料によっては夾雑物等の影響で PCR 阻害を生じることがあります。その場合には試料の量を減らすか、DNA 抽出液を希釈して PCR に使用してください。また、阻害物質抵抗性の高い PCR 酵素である MigthyAmp DNA Polymeae Ver.3 (製品コード R076A/B) や Tks Gflex DNA Polymerase (製品コード R060A/B) を用いることで、増幅成功率は大きく向上します。

それでも PCR 阻害が生じる場合には、NucleoSpin Tissue (製品コード 740952.10/.50/.250) 等を使用して、元の試料より DNA 精製を行うことをお勧めします。

IV. 操作

IV-1. 標準プロトコール

1. 試料*1 を 1.5 ml マイクロチューブに採取する。
2. MightyPrep reagent for DNA 100 μl を添加し、ボルテックスで混合する。
3. 95℃で 10 分加熱する。
4. 12,000 ~ 15,000 rpm で 2 分間遠心する。
5. 上清を PCR の鋳型として使用する。*2,3

* 1 : 持ち込む試料の目安量 : 血液 2~20 μl、マウス尾 1~2 mm、植物 1~10 mm²、土壌 ~0.5 mg など

* 2 : 抽出液はできるだけ早めにご使用ください。保存する場合には、上清を別のチューブに移して、4℃で保存してください。

* 3 : 抽出液の PCR 反応液への持ち込み量は、反応液の 1 / 10 量以下としてください。

IV-2. 菌体サンプルからの調製プロトコール

・コロニーからの調製

- (1) 1.5 ml マイクロチューブに MightyPrep reagent for DNA 100 μ l を分注しておく。
- (2) プレート上のコロニーから滅菌済のマイクロピペット用チップや白金耳で微量の菌体を取り、(1) で用意した MightyPrep reagent for DNA 100 μ l に懸濁する。
- (3) IV-1. の操作 3. ~ 5. を行う。

・液体培養液からの調製

- (1) 菌体培養液 1.3 ml を 1,000 rpm で 1 分間遠心し、上清 1.0 ~ 1.2 ml を新しいチューブに回収する。(固形の夾雑物が多い場合に実施)
- (2) 12,000 ~ 15,000 rpm で 3 分間遠心し、上清を除去する。
- (3) IV-1. の操作 2. ~ 5. を行う。

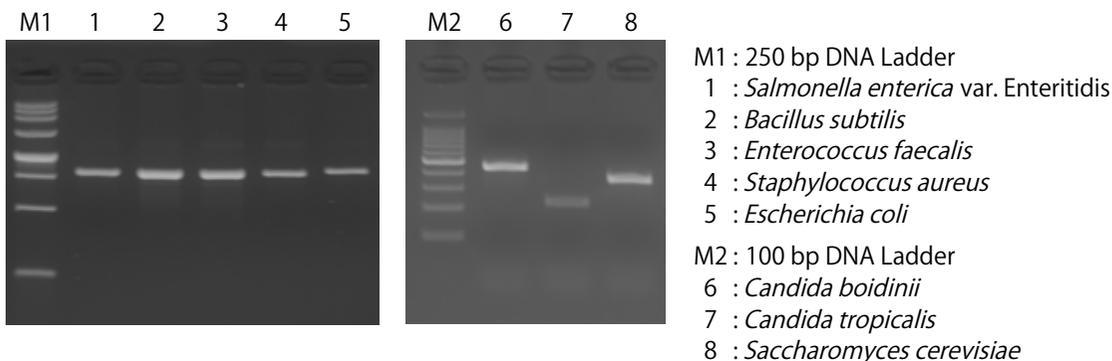
V. 使用例

A. 各種微生物からの DNA 抽出

プレート培養した各種微生物 (細菌 5 種および真菌 3 種) から本製品を用いてコロニーから DNA 抽出液を調製し、以下のキットを用いて PCR 検出を行った。

- ・ Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800) (製品コード RR182A)
- ・ Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast (製品コード RR183A)

試験に供したすべての微生物で良好に PCR 増幅を行うことができた。

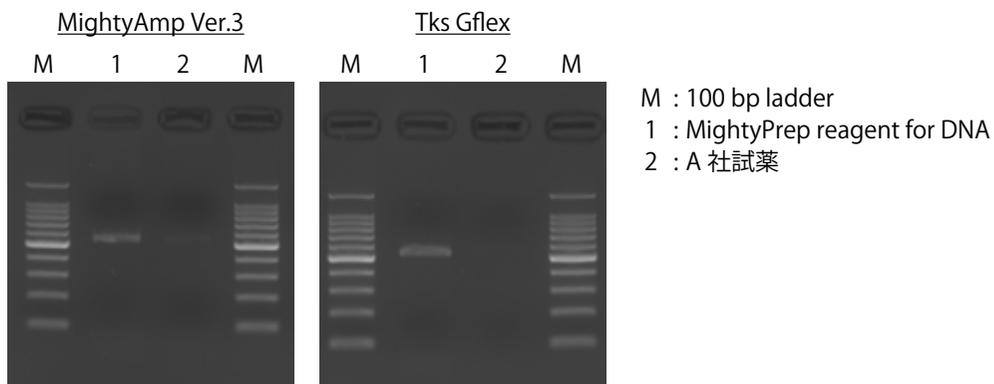


	Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800)	Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast
DNA 抽出液使用量	2.5 μ l	2.5 μ l
Total volume	25 μ l	25 μ l
ターゲット	1 ~ 5 : 16S rDNA (約 800 bp)	6 ~ 8 : ITS1 (150 ~ 500 bp)
PCR 条件	94°C 5 sec. } 55°C 1 sec. } 25 cycles 68°C 4 sec. }	94°C 5 sec. } 50°C 1 sec. } 30 cycles 68°C 3 sec. }

B. マウス尾からの DNA 抽出

マウス尾 2 mm より本製品および A 社試薬を用いて DNA 抽出液を調製し、以下の PCR 酵素で PCR 検出を行った。

- MightyAmp DNA Polymerase Ver.3 (製品コード R076A/B)
- Tks Gflex DNA Polymerase (製品コード R060A/B)

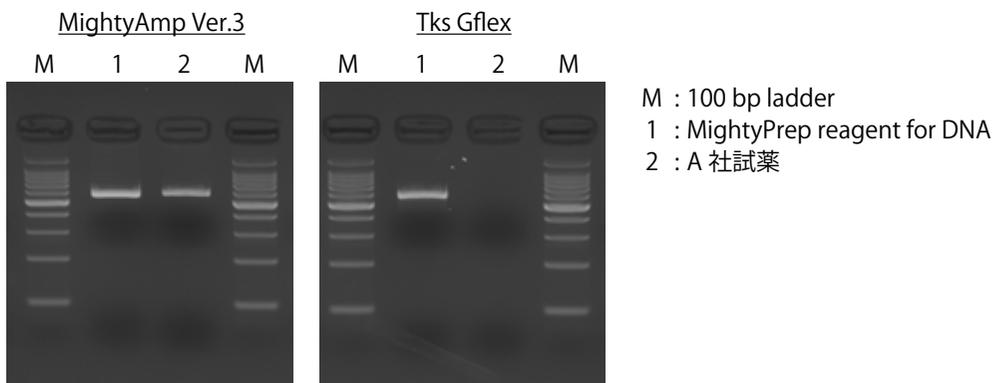


	MightyAmp DNA Polymerase Ver.3	Tks Gflex DNA Polymerase
DNA 抽出液使用量	2.5 μ l	2.5 μ l
Total volume	25 μ l	25 μ l
ターゲット	<i>Hbb-b1</i> (542 bp)	<i>Hbb-b1</i> (542 bp)
PCR 条件	98°C 2 min. 98°C 10 sec. } 60°C 15 sec. } 30 cycles 68°C 30 sec. }	98°C 10 sec. } 60°C 15 sec. } 30 cycles 68°C 15 sec. }

C. 牛乳中のサルモネラ菌 DNA の抽出

牛乳にサルモネラ菌を添加した懸濁液 10 μ l より本製品および A 社試薬を用いて DNA 抽出液を調製し、以下の PCR 酵素でサルモネラ菌 DNA の PCR 検出を行った。

- MightyAmp DNA Polymerase Ver.3 (製品コード R076A/B)
- Tks Gflex DNA Polymerase (製品コード R060A/B)



	MightyAmp DNA Polymerase Ver.3	Tks Gflex DNA Polymerase
DNA 抽出液使用量	2.5 μ l	2.5 μ l
Total volume	25 μ l	25 μ l
ターゲット	invA (605 bp)	invA (605 bp)
PCR 条件	98°C 2 min. 98°C 10 sec. 60°C 15 sec. 68°C 40 sec.	98°C 10 sec. 60°C 15 sec. 68°C 20 sec.
	} 30 cycles	} 30 cycles

VI. 関連製品

MightyAmp® DNA Polymerase Ver.3 (製品コード R076A/B)
Tks Gflex™ DNA Polymerase (製品コード R060A/B)
NucleoSpin Tissue (製品コード 740952.10/.50/.250)
Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800) (製品コード RR182A)
Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast (製品コード RR183A)

VII. 注意

- 本製品は、研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- MightyAmp はタカラバイオ株式会社の登録商標です。Tks Gflex はタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

TakaRa テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ホームページアドレス <http://www.takara-bio.co.jp/>

タカラバイオ株式会社