

スピнкаラムを用いた糞便からの DNA 抽出・精製キット

# ISOSPIN Fecal DNA

製品名	包装単位	製品コード	希望納入価格 (税別)
ISOSPIN Fecal DNA	50 回用	315-08621	48,000 円

本品は糞便からDNAを抽出・精製するためのキットです。

糞便に至適化した抽出液とビーズビーティングによる物理的な破碎の併用によって、強固な細胞壁を有する微生物からもDNAを抽出することが可能です。

また、精製工程においては、独自開発したスピнкаラムを採用しており、フェノールやクロロホルムなどの毒性有機溶媒を使用することなく、迅速・簡便にDNAを精製することが可能です。

- ▶ 糞便から純度の高いDNAが高収量で得られる
- ▶ 30分間～1時間で抽出・精製が可能
- ▶ フェノール・クロロホルム不要
- ▶ 強固な細胞壁を有する微生物からも抽出可能
- ▶ RNase A の添加により、RNAの混入が少ないDNA溶液が得られる

## 保存

### 室温

RNase A は室温保存可能ですが、長期間使用しない場合は冷蔵または冷凍（-20℃）で保存してください。

## キット内容

FE1 Buffer	35 ml × 1 本
FE2 Buffer	4.5 ml × 1 本
FB Buffer	40 ml × 1 本
FW Buffer	40 ml × 1 本
TE (pH 8.0)	5 ml × 1 本
RNase A (100 mg/ml)	0.5 ml × 1 本
Beads Tube	50 本 × 1 袋
Spin Column	50 本 × 1 袋

## 実験例

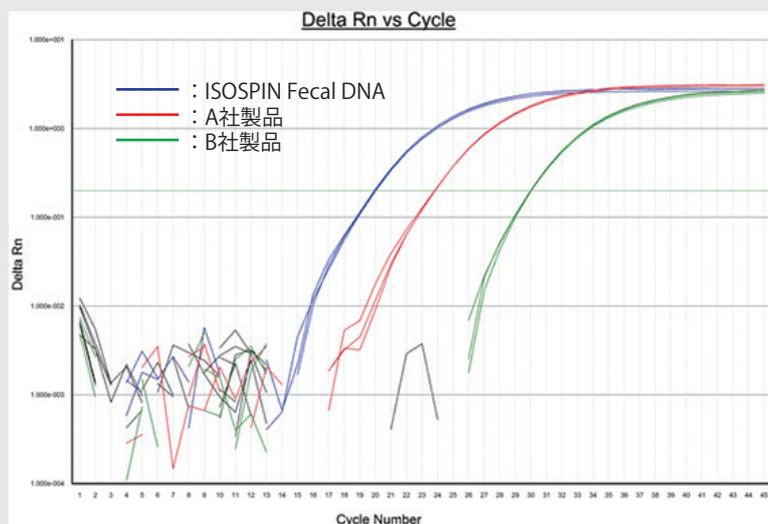
本品およびA社、B社の糞便DNA抽出キットを用いて、0.2 gのヒト糞便からDNA溶液を得た。

吸光度測定結果に基づいて定量した5 ngのDNAを鋳型に *Bifidobacterium* 属を検出するプライマー & プローブおよびDirectAce qPCR Mix plus ROX Tube (Code No:318-07751) を用いて Ct 値を比較した。

PCR装置：  
ABI7500 Fast System (ThermoFisher Scientific社)

## 結果

ISOSPIN Fecal DNA (本品) で抽出したDNAを用いた場合、A社およびB社の糞便DNA抽出キットで得られたDNA溶液よりも低い Ct 値を示した。このことから、ISOSPIN Fecal DNA は、ヒト糞便中の *Bifidobacterium* 属のようなグラム陽性菌からも効率的にDNAを得ることが可能であると示唆された。



### 標準プロトコール (Beads Beat 法)

Beads Tube に 0.2 g の糞便サンプルを入れる

- ← 700  $\mu$ l の FE1 Buffer を添加
- ← 10  $\mu$ l の RNase A を添加

**Beads Beat** (4~6 m/s または 4,200~6,800 rpm で 30~45 秒間)

スピンドウン (室温に戻す)

- ← 90  $\mu$ l の FE2 Buffer を添加し、十分に混合

遠心 (12,000  $\times$ g, 15 分間)

上清 500  $\mu$ l を新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す

- ← 200  $\mu$ l の FB Buffer を添加
- ← 200  $\mu$ l の イソプロパノールを添加し、転倒混和でよく混合

混合液 900  $\mu$ l (全量) を Spin Column に添加

遠心 (13,000  $\times$ g, 30 秒間)  
ろ液を捨てる

- ← 600  $\mu$ l の FB Buffer を添加

遠心 (13,000  $\times$ g, 1 分間)  
ろ液を捨てる

- ← 600  $\mu$ l の FW Buffer を Spin Column に添加

遠心 (13,000  $\times$ g, 1 分間)  
ろ液を捨てる

Spin Column のカラムを新しい 1.5 ml マイクロチューブの上に移す

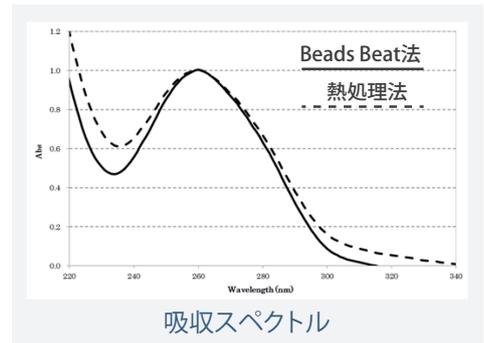
- ← 50  $\mu$ l の TE (pH 8.0) をメンブレン中央に滴下
- 室温静置 3 分間

遠心 (13,000  $\times$ g, 1 分間)

DNA 溶液

#### <熱処理法によるプロトコール>

DNA の物理的な剪断を避けたい場合、Beads Beat の代わりに  
ヒートブロックで 65°C、1 時間加温 (15 分毎混和)



※本品のご使用には、別途 ビーズ式破碎装置 (2 ml チューブ対応) が必要になります。

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号  
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547  
URL: <http://www.nippongene.com>

販売元 **富士フイルム 和光純薬株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)  
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806