

**土壌からの DNA 抽出キット**
**ISOSPIN Soil DNA**

Code No. 310-09151

簡易マニュアル(第2版)202206CNI

**I 製品説明**

ISOSPIN Soil DNA(アイソスピン ソイル DNA)は、スピнкаラムを用いて土壌から DNA を抽出・精製するためのキットです。土壌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、非火山灰土壌だけでなく、火山灰土壌(黒ボク土)からも効率よく DNA を抽出することが可能です。

**<特長>**

- ・ NGS 解析に使用可能な高純度な DNA が得られる
- ・ 火山灰土壌(黒ボク土)からも DNA 抽出可能
- ・ 強固な細胞壁を有する微生物からも DNA 抽出可能

**II 製品内容**
**Code No. 310-09151 (50 回用)**

内容	容量	保存温度
Lysis Solution BB	30 ml × 1 本	室温
Lysis Solution 20S	5 ml × 1 本	室温 <sup>*1)</sup>
Lysis Solution A	5 ml × 1 本	室温
SE Buffer	3 ml × 1 本	室温
SB Buffer	62 ml × 1 本	室温
SW Buffer	36 ml × 1 本	室温 <sup>*2)</sup>
TE (pH8.0)	5 ml × 1 本	室温
RNase A (100 mg/ml)	0.5 ml × 1 本	室温 <sup>*3)</sup>
Beads Tube	50 本 × 1	室温
Spin Column	50 本 × 1 <sup>*4)</sup>	室温

- \*1) Lysis Solution 20S 中に結晶が析出する場合がありますが、品質、性能に問題はありません。このような場合には、容器ごと 65℃程度でインキュベートし(ときおり混和する)、結晶を完全に溶解させてからご使用下さい。
- \*2) SW Buffer にはエタノールが含まれています。ご使用後は、蒸発を防ぐため速やかに蓋を閉め、保管して下さい。
- \*3) 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保存(4℃)もしくは冷凍保存(-20℃)して下さい。
- \*4) Spin Column は、蓋付きのシリカメンブレンカラム(上部パーツ)と Collection Tube(下部パーツ)で構成されています。

**III 使用上の注意**

- ・ 本品は、試験研究用試薬ですので、医薬品、その他の目的にはご使用になれません。
- ・ 本品の取り扱い、マニュアル記載内容通りに行ってください。試薬についての基本的な知識のある方以外は取り扱いしないで下さい。
- ・ マニュアル記載内容と異なった取り扱いによるトラブルにつきましては、弊社では責任を負いかねます。
- ・ 安全性データシート(SDS)は、ニッポンジーン Web サイト(www.nippongene.com)よりご覧になれます。
- ・ 本品は、東京大学 TLO が所有する特許のライセンスを受けて製造販売しております。

**IV プロトコール**
**<使用目的に合わせてプロトコールを選択>**

PCR 等で解析を行う場合、DNA の断片化を抑えたい場合：  
⇒ ① 標準プロトコール

NGS で菌叢解析を行う場合：  
⇒ ② NGS 用プロトコール

土壌中のアロフェン質が非常に多く、上記①、②プロトコールで土壌 DNA の収量が少ない場合：  
⇒ ③ 標準プロトコール・オプション SP1 (別売品使用)  
⇒ ④ NGS 用プロトコール・オプション SP1 (別売品使用)

**<本品以外に必要な試薬、機器など>**

- ビーズ式破碎装置(2 ml チューブ対応のもの)
- ボルテックスミキサー
- 遠心分離機
- 卓上遠心機
- 1.5 ml マイクロチューブ
- マイクロピペット
- ピペットチップ
- エタノール(96~100%)

- \* Beads Beat 破碎条件(4~6 m/秒間または 4,200~6,800 rpm で 30~45 秒間)に対応できるビーズ式破碎装置をご使用ください。ボルテックスミキサーはビーズ式破碎装置の代わりに使用できません。

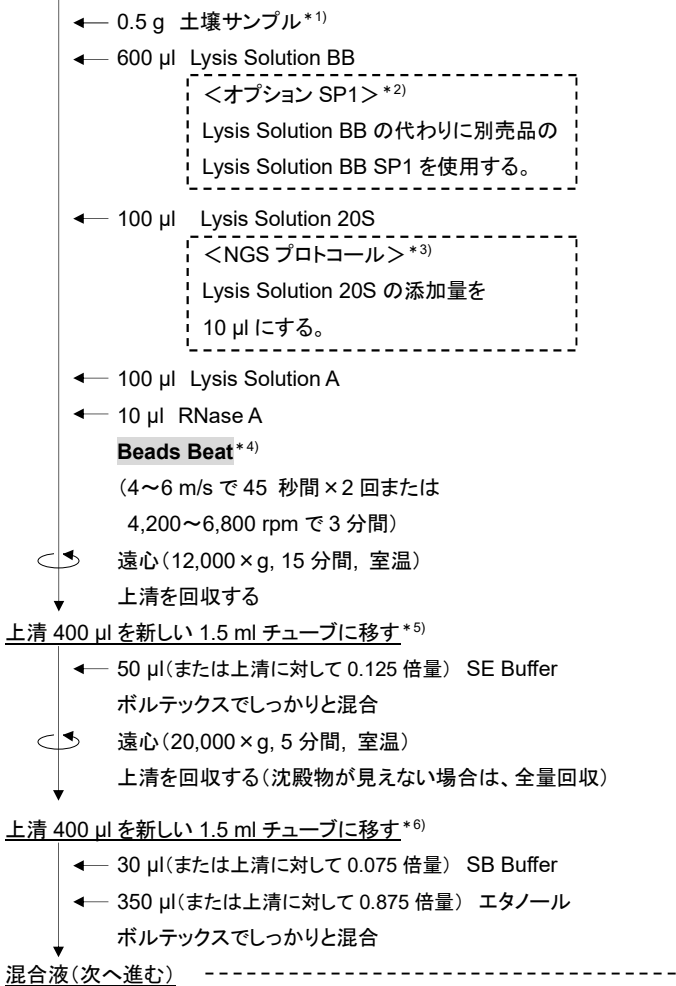
**<オプション SP1 で必要な試薬>**

- Lysis Solution BB SP1 (別売品: Code No. 313-06221)

## <標準プロトコール>

ビーズ式破碎装置 (2 ml チューブ対応のもの) が必要です。

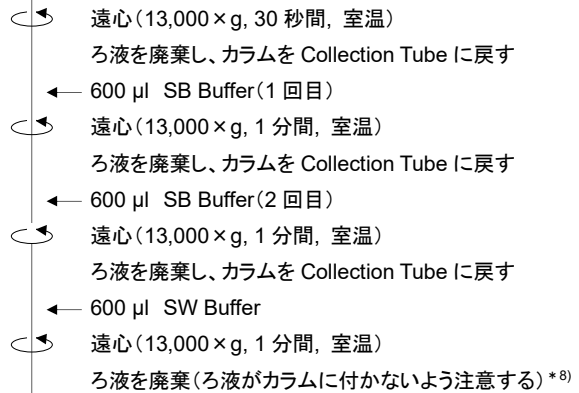
### Beads Tube



### 混合液 (前からのつづき)\*<sup>7)</sup>

#### 混合液を全量 Spin Column に添加

(混合液に析出物が生じた場合は、析出物もカラムに添加)



#### カラムを新しい 1.5 ml チューブの上に移す

← 100 µl TE (pH8.0) をメンブレン中央に滴下  
室温で 3 分間静置

遠心 (13,000 × g, 1 分間, 室温)

DNA 溶液が 1.5 ml チューブの中に回収される

\*1) できるだけ新鮮な土壌を用いて下さい。

\*2) オプション SP1:

Lysis Solution BB の代わりに Lysis Solution BB SP1 (別売り: Code No. 313-06221) を使用することで DNA 収量を向上させることができます。Lysis Solution BB SP1 は、黒ボク土などのアロフェン質を非常に多く含む土壌からの DNA 抽出用に開発されたオプション溶液です。Lysis Solution BB SP1 に変える以外は、標準プロトコールと同様に操作して下さい。

\*3) NGS 用プロトコール:

NGS (Next Generation Sequencing) による菌叢解析を行う場合は、Lysis Solution 20S の添加量を 10 µl に減らします。Lysis Solution 20S の添加量を変える以外は、標準プロトコールと同様に操作して下さい。

\*4) 蓋のゆるみは Beads Beating 中の液漏れの原因となるため、Beads Tube の蓋がしっかりと閉まっていることを確認して下さい。

\*5) 400 µl の上清を回収できない場合は、次に添加する SE Buffer の添加量を上清の液量に対して 0.125 倍量にして下さい。(例えば、上清が 360 µl の場合、SE Buffer は 45 µl 添加します。)

\*6) 400 µl の上清を回収できない場合 (または 400 µl より多く回収できた場合) は、次に添加する試薬 (SB Buffer とエタノール) の液量比を維持してスケールダウン (またはスケールアップ) して下さい。

\*7) 混合液の液量比は、Spin Column への DNA 吸着に影響します。混合液の液量比を守り、よく攪拌してから Spin Column へ添加して下さい。

\*8) SW Buffer で洗浄した後、カラムにろ液が付着しないよう慎重に Collection Tube を取り外して下さい。カラムにろ液が付着した場合は、Spin Column を空回してから、次のステップで新しいチューブを装着して下さい。

土壌は様々な鉱物、粘土などの無機物、様々な植物および植物遺体、腐植物質をはじめとする土壌有機物、そしてそこに生息する多様な微生物から成り立っています。そのため、一つとして同じ土壌はないと言えます。土壌は極めて多様なサンプルであることから、土壌の種類や状態によっては収量が上がらない可能性があります。

本キットで抽出した土壌 DNA の収量が少ない場合、試薬や操作上の問題だけでなく、土壌サンプルが他にはない特異な性質を有している可能性も考慮して下さい。

製品詳細や実験データなどはニッポンジーン Web サイトをご覧ください。

ISOSPIN 310-09151

