

ヨーネ菌 DNA 抽出キット

ヨーネスピン[®] ver.2

商品コード:D002-N

取扱説明書

I 製品説明

本製品は、ビーズ式破碎と界面活性剤の作用によって、ヨーネ菌(*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*)からDNAを回収するための抽出キットです。本製品には、DNAの回収に必要な試薬を全て含んでいるため、別途試薬を用意していただく必要がありません。

【 ヨーネスピン[®] ver.2 の特徴 】

- ① ヨーネ菌から、DNAを効率良く回収できます。
- ② ビーズ式破碎に用いるビーズを、チューブに小分けして提供します。煩雑な小分け操作の必要はありません。
- ③ 人体に有害なフェノールやクロロホルム等の有機溶媒を使用しません。
- ④ DNAの精製ステップで、一般に使用されるアルコール沈殿を行う必要がありません。
- ⑤ 回収したDNAは、そのままreal-time PCR法*やLAMP法*等の増幅反応に使用することが可能です。

* 本製品は、real-time PCR法やLAMP法に関する特許使用許可を示唆するものではありません。

II キット内容

包装単位：100回用

	名 称	容 量	数 量
I	抽出液 ①	70 ml	1 本
II	抽出液 ②	8.5 ml	1 本
III	吸着液 ③	50 ml	1 本
IV	洗浄液 ④	70 ml	1 本
V	溶出液 ⑤ (TE Buffer)	5 ml	1 本
VI	酵素液	0.7 ml	1 本
VII	Beads Tube	50 本	2 袋
VIII	Spin Column	50 本	2 袋
IX	取扱説明書	—	1 部

III 保存

- ・ 室温(15℃～25℃)で保存して下さい。ただし、長期間ご使用にならない場合は、酵素液だけを別に冷凍保存(－20℃)することをお勧め致します。
- ・ 夏場など、25℃以上になる恐れがある場所で保管する場合は、Spin Column をキットから取り出し、冷蔵保存(2～10℃)することをお勧め致します。
- ・ 吸着液③、洗浄液④には、揮発性の高い イソプロパノール、エタノールがそれぞれ含まれています。ご使用後は、蒸発を防ぐために必ず蓋を閉めてください。

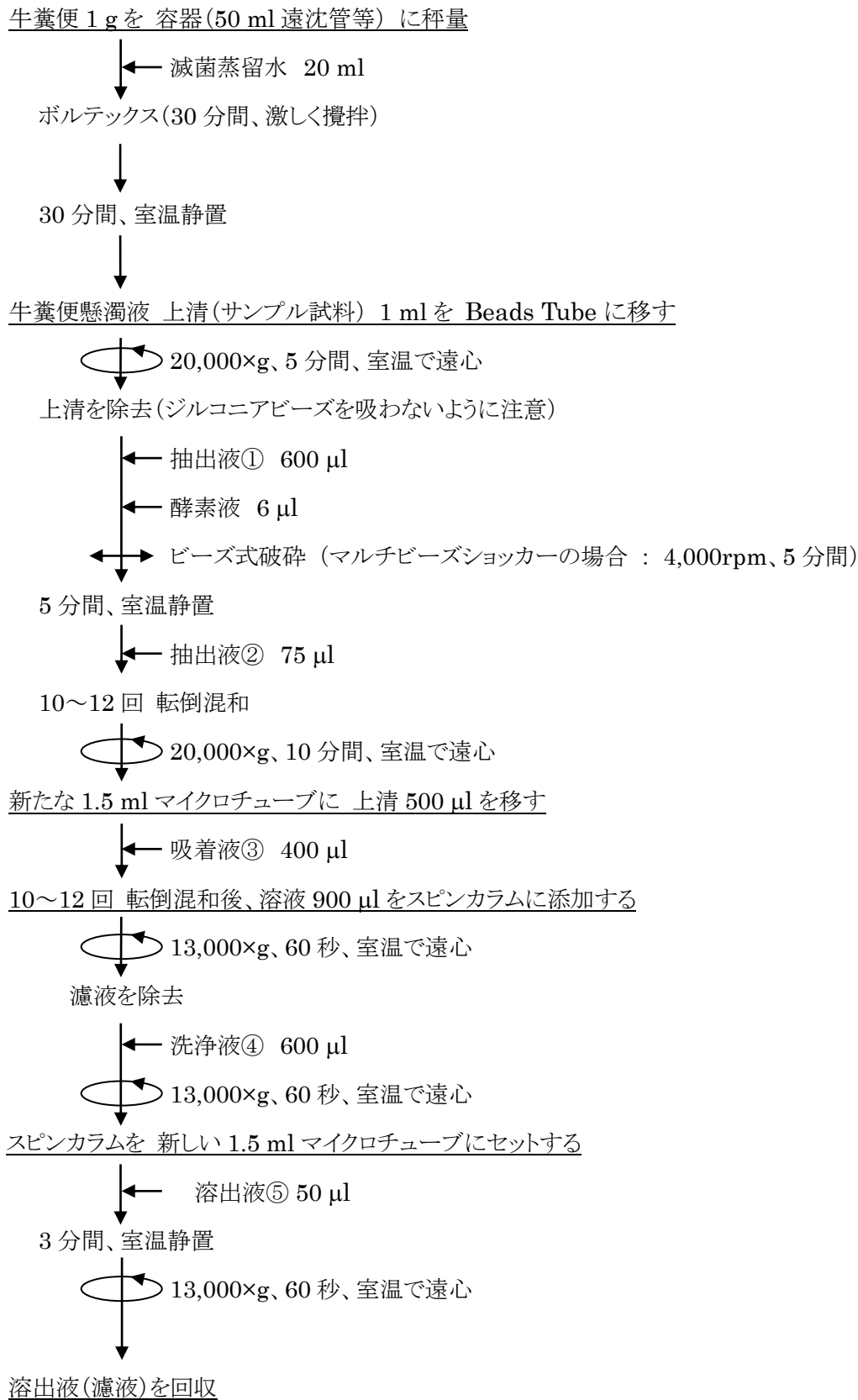
IV 本キット以外に必要な機器など

- ・ マイクロピペット
- ・ ピペットチップ
- ・ 1.5 ml マイクロチューブ
- ・ 50 ml 遠沈管
- ・ ビーズ式破砕機(マルチビーズショッカーなど、ヨーネ病検査マニュアル参照)
- ・ 遠心分離機
- ・ ボルテックスミキサー
- ・ タイマー

V プロトコール(例 牛糞便からのヨーネ菌 DNA 抽出)

- (1) 牛糞便 1 g を 50 ml 遠沈管に採取し、滅菌蒸留水を 20 ml 添加、ボルテックスミキサーで激しく混合攪拌(30 分間)した後、30 分間静置する。(牛糞便懸濁液)
- (2) 付属の **Beads Tube (2.0 ml ビーズチューブ)** に、(1)の 牛糞便懸濁液 の上清より 1 ml を移し、遠心(20K×g, 5 分間, 室温)した後、その上清を除去する。
- (3) (2)の **Beads Tube** に 600 μl の **抽出液 ①** 及び 6 μl の **酵素液** を添加する。
- (4) ビーズ式破砕機に(3)の **Beads Tube** をセットし、「4,000 rpm、5 分間」の条件で破砕する。
* 上記破砕条件は、マルチビーズショッカーを使用した場合です。他の破砕機を使用される場合は、ヨーネ病検査マニュアル記載の条件に従ってください。
- (5) 5 分間、室温にて静置する。
* ビーズ式破砕で発生した気泡が気になる場合は、遠心(13K×g, 60 秒間, 室温)して、チューブの裏蓋から気泡を落としてください。
- (6) 75 μl の **抽出液 ②** を添加し、10 ~ 12 回チューブを転倒し、よく混和する。
- (7) 遠心(20K×g, 10 分間, 室温)する。
- (8) 上清 500 μl を 新しい 1.5 ml マイクロチューブに移す。
- (9) 400 μl の **吸着液 ③** を添加し、10~12 回チューブを激しく転倒させ、よく混和する。
- (10) (9)の混合液 900 μl を 付属の **Spin Column (スピнкаラム)** に移し、遠心(13K×g, 60 秒間, 室温)し、濾液は除去する。
* コンタミ防止のため、濾液の除去は、マイクロピペットを使用してください。
- (11) 600 μl の **洗浄液 ④** を (10)で使用した **Spin Column** に添加した後、遠心(13K×g, 60 秒間, 室温)し、濾液は除去する。
- (12) (11)の **Spin Column** を 新しい 1.5 ml マイクロチューブにセットする。
- (13) 50 μl の **溶出液 ⑤** を (12)の **Spin Column** に滴下した後、3 分間室温で静置する。
- (14) **Spin Column** を 遠心(13K×g, 60 秒間, 室温)し、濾液を回収する。

VI プロトコールの簡易フロー



VII 使用上の注意

- (1) 本製品はヨーネ菌の DNA を抽出するためのキットです。その他の目的にはご使用になれません。
- (2) 試薬についての基礎的な知識のある方以外は、取り扱わないでください。
- (3) 本製品の使用にあたっては、取扱説明書の記載内容どおりに行ってください。
- (4) 取扱説明書記載内容と異なったお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。
- (5) 本製品外箱には使用期限が表示されております。使用期限を守ってご使用ください。
- (6) 廃棄方法は、国または地方自治体の条例に従ってください。

※ 素材：チューブ(PP)、スピncラム(PP)、ボトル(PP)、ビーズ(ジルコニア)、ラベル(PET)、外箱(紙)、マニュアル(紙)

- (7) SDS の記載内容をご一読の上、ご使用ください。なお、SDS につきましては、弊社 HP (<http://www.fasmac.co.jp/>) よりダウンロードして入手願います。

VIII 参考文献

- 1) ヨーネ病検査マニュアル 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
<https://www.naro.affrc.go.jp/niah/disease/paratuberculosis/index.html>

発売元： **FASMAC** 株式会社ファスマック

お問い合わせ先： 株式会社ファスマック 遺伝子検査事業部

〒243-0041 神奈川県厚木市緑ヶ丘 5-1-3 TEL:046-295-8787 FAX:046-294-3738