

forensicGEM™ Sperm Kit 簡易マニュアル

2020/10/09 作成

エムエス機器株式会社

以下は MicroGEM 社の公式 Website (<https://microgembio.com/>) からダウンロードできる Quick-Start Guide (QSG) や Ordering Information & Product Guide や公式 Website の記述など、複数の情報源から作成した簡易マニュアルです。必要に応じアレンジしていただけたら幸いです。なお、簡易マニュアルのもととなった QSG の版は “QSG_004_190531_forensicGEM Sperm” です。

<用途>

forensicGEM Sperm Kit は精液から DNA を抽出するためのキットです。

<内容物>

forensicGEM Sperm Kit の内容物は以下のとおりです。

- forensicGEM
- Acrosolv
- 10x ORANGE+ Buffer

<溶解>

上記内容物のうち Acrosolv だけは凍結乾燥粉末で届くので到着後に DNA-free 水を下記のように添加して溶解してください。

反応(回)	型番	DNA-free 水
50	FSC0050	0.55 mL
100	FSC0100	1.1 mL
500	FSC0500	5.5 mL
1000	FSC1000	11.0 mL

<保管>

forensicGEM Sperm Kit は安定ゆえ室温配送されますが、到着後の未開封キットは 4℃で保管してください。チューブ開封後の forensicGEM や溶解後の Acrosolv は念のため小分けにして-20℃で保管してください。バッファーは 4℃で保管できます。

Semen (精液)

液状の精液から DNA 抽出する場合は抽出液ミクスチャーに添加する精液の量は 10 μ L 以下となるようにしてください。スワブの場合は精液のついていいるスワブ先端部をハサミ等で 1/4 ほど切ってその小片を抽出液ミクスチャーに直接添加します。布地に染みた精液の場合は染みた部分をスワブしたのち前述のように操作して小片を直接添加するか、精液の染みた布地をハサミ等で小片にしてそれを直接 PCR チューブに加えます。

1. PCR チューブにサンプルを入れます。
2. PCR チューブ中で以下のように試薬を混合します。

10 μ L	10x ORANGE+ Buffer
2 μ L	forensicGEM
10 μ L	Acrosolv
100 μ L となるまで DNA-free 水で Fill up	
3. ボルテックスミキサーでよく混合します。
4. サーマルサイクラーで以下のように熱処理を行います。

52 $^{\circ}$ C	5 分
75 $^{\circ}$ C	3 分
95 $^{\circ}$ C	3 分
4 $^{\circ}$ C	HOLD
5. 上清を別の新しいチューブに移しとります。

DNA は移しとった上清中にあります。抽出された DNA を保存する場合は 1/10 容量の 10x TE Buffer を添加して -20 $^{\circ}$ C 以下で保存します。

Technical Tips (技術情報)

- *forensicGEM* は DNA を抽出するためのキットです。このキットは細胞を溶解し DNA から核タンパク質を除去します。抽出された DNA はさまざまなジェノタイピング (SNP 解析、STR 解析など) や定量 PCR、マルチプレックス PCR、エンドポイント PCR 等に用いることが可能です。
- プロトコルには濃縮ステップがありません。それゆえ最終抽出物の DNA 濃度は 1) サンプルの質 2) スワブの場合はスワブサイズや溶出に使った液量 3) サーマルサイクラーにかけた際の液量 に依存します。
- *forensicGEM* で抽出された DNA は 95°C 数分のステップのために多くがシングルストランド形状となっています。
- *forensicGEM* で抽出された DNA を正確に定量するには qPCR を奨励します。あるいは PicoGreen, iQuant, Qubit 等の蛍光色素法で定量することも可能です。OD₂₆₀ 測定による定量は適していません。
- DNA 抽出前や抽出後はサンプルを 4°C あるいは氷上で扱うことを奨励します。
- 抽出された DNA を保存する場合は 1/10 容量の 10x TE Buffer を添加して -20°C 以下で保存します。