

1. Introduction

CellEase®Tissue II is the reagent kit for extraction of genomic DNA from tissue cells rapidly and efficiently. You can prepare PCR (Polymerase Chain Reaction) grade template DNA with simple protocol (mix with reagent and test samples and then incubate without any purification steps).

2. Contents

Reagent A	: 1.0ml
Reagent B	: 1.0ml
Instruction manual	: 1
Volume	: 50 reactions
Store at	: 4°C

3. Principle

The reagent A disrupts the cells and stabilizes the genomic DNA from the samples. The reagent B degrades the cell extracts quickly. You can prepare the DNA from the cells efficiently in short time. These reagents don't have any inhibitor for PCR and also inactivate the PCR inhibitors from the cell debris. Thus, you can use the DNA samples with CellEase® Tissue II directly to PCR. These CellEase® Tissue II reagents don't include any toxic or harmful chemical compounds.

4. Use

Mouse tail, animal tissue, cultured cells, etc.

5. Preparation

Prepare the CellEase® mixture before use. Mix well the reagent A, B and distilled water (1:1:3). The mixture is not able to store for long time.

Table 1. Preparation of CellEase® mixture

Number of samples	Reagent A (μl)	Reagent B (μl)	Distilled water (μl)
1	20	20	60
5	100	100	300
10	200	200	600
25	500	500	1500
50	1000	1000	3000

6. Standard protocol (DNA template for PCR)

1) Cut samples into appropriate size and put in the micro-tube (The optimal sample amount will vary with the type of samples).

- 2) Add CellEase® mixture into the test samples.
- 3) Incubate the samples at 72°C for 6 minutes.
- 4) Then, continually incubate the samples at 94°C for 3 minutes.
- 5) Take appropriate amount of samples and use as a template DNA of PCR.

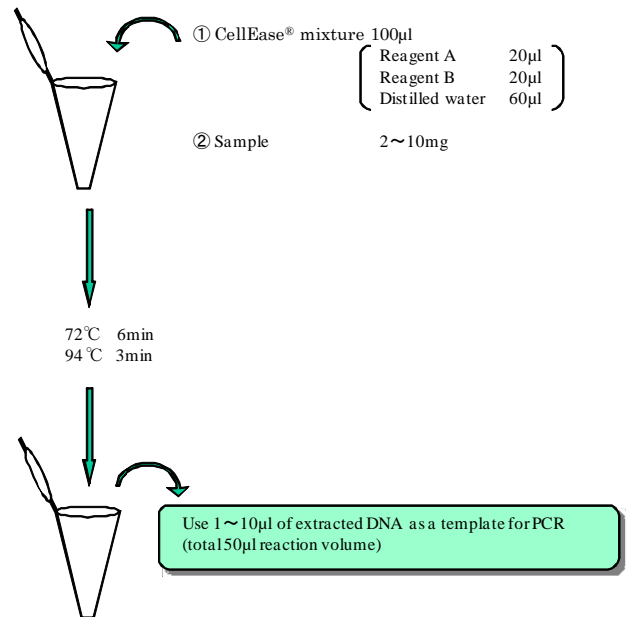
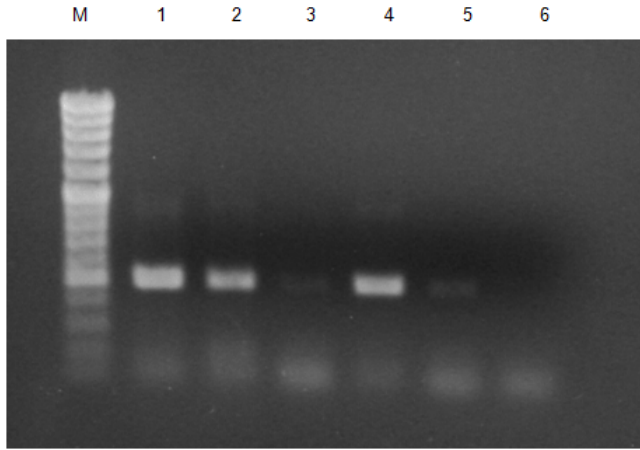


Fig. 1. The Schematic diagram for the extraction of DNA

5. Caution

- 1) Please use samples without including too much skin, hair, bone etc.
- 2) By using finely cut samples, genomic DNA can be more efficiently extracted.
- 3) You can adjust the volume of CellEase® mixture as amount of sample volume.
- 4) If it isn't enough DNA extracts with standard protocol. You can use a little longer incubation time (up to 60min) on the step of 72°C.
- 5) The rate of the mixture of reagent A, B and distilled water should be keep correctly.
- 6) The DNA extracts should be added less than 20% of the total volume of PCR.
- 7) The DNA extracts can be kept at 4°C for a few days. Alternatively it would be stored at -20°C until use.
- 8) If necessary, remove debris in DNA extraction fraction by using centrifugation.
- 9) CellEase®Tissue II is for research use only. Please don't use CellEase®Tissue II to the other purpose.



M	Marker (100bp ladder)	
1	DNA extract by using CellEase Tissue II	conc.
2		× 10
3		× 100
4	DNA extract by using conventional CellEase	conc.
5		× 10
6		× 100

※ The protocol of conventional CellEase and CellEase II kit were followed by the instruction manual respectively.

※ The thickness of the DNA bands were depending upon the amount of test samples and a parts of tissue including bone, skin or fat.

The clear DNA bands were detected from more than × 10 dilution of DNA extracts by using CellEase Tissue II

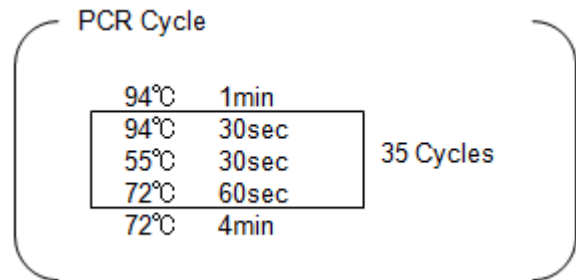
Protocol of CellEase Tissue II

- 1) Cut 5mm of the mouse tail (c.a.10mg) and put it in the micro test tube (ordinary use 0.2ml or 0.5ml tubes for PCR).
- 2) Mix the Reagent A, B and distilled water.
(20 ul CellEase A, 20 ul CellEase B, 60 ul distilled water)
- 3) Add 100 ul of the mixture to the samples.
- 4) Incubate at 72°C for 6 minutes. Then incubate at 94°C for 3 minutes.
- 5) Transfer 6ul of extracts to PCR reaction mixture and amplify the target DNA fragment.

PCR reagent

6.0 ul	Test sample
5.0 ul	× 10 buffer (+Mg ²⁺)
5.0 ul	dNTPs
1.0 ul	Forward Primer (10pmol/ul)
1.0 ul	Reverse Primer (10pmol/ul)
0.5 ul	Ex Taq DNA polymerase (5 U/ul, Takara, Japan)

Fill up to 50ul by distilled water



※ We can provide application data for the other kind of samples. Please don't hesitate to contact us.

※ CellEase® is the registered trademark of Biocosm Inc.

For research use only. Not for clinical diagnosis.

Manufactured by Biocosm Inc.

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science
TOYO 2CHOME, KOTO-KU, TOKYO, 135-0016, JAPAN
URL: <http://www.cosmobio.co.jp> e-mail: export@cosmobio.co.jp
[Outside Japan] Phone : +81-3-5632-9617 [国内連絡先] Phone : +81-3-5632-9610
FAX : +81-3-5632-9618 FAX : +81-3-5632-9619

1. はじめに

CellEase®Tissue II は、組織細胞試料からゲノム DNA を効率よく抽出するための試薬です。本試薬と試料を混合した後、インキュベートするだけの簡単な操作で、PCR 反応に使用可能なテンプレート DNA が調製できます。

2. 製品内容

Reagent A	: 1ml
Reagent B	: 1ml
	(50 回分)
取扱説明書	: 1 部
保管温度	: 4℃

3. 原理

CellEase®Tissue II の試薬 A 液には、生体膜を速やかに可溶化する働きと、抽出されたゲノム DNA を安定に保つ働きがあります。また試薬 B には細胞の成分を効率良く分解する働きがあります。試薬 A 液および B 液を作用させることで、細胞から短時間で効率良くゲノム DNA を抽出することができます。本製品には PCR 反応を阻害するような成分は含まれておらず、また生体由来の PCR 阻害物質の作用を抑制する働きがあるため、本試薬で抽出したゲノム DNA は、PCR 反応にそのまま使用可能です。なお、本製品は消防法による危険物、毒物及び劇物取締法等に該当する有害な化合物を含んでおりません。

4. 適用

マウステール等各種動物組織細胞

5. 試薬の準備

使用する前に試薬 A および試薬 B を静かに転倒混合して下さい。次に、試薬 A、試薬 B および滅菌水を表 1 に従い 1:1:3 の比率で混合し、CellEase®混合液を調製して下さい。CellEase®混合液を直ちに使用できない場合は、冷蔵にて保管して下さい。CellEase®混合液は、長期保存できませんので、使用前に調製して下さい。

表 1 CellEase®混合液の調製例

検体数	Reagent A (μl)	Reagent B (μl)	滅菌水(μl)
1	20	20	60
5	100	100	300
10	200	200	600
25	500	500	1500
50	1000	1000	3000

6. 標準プロトコール (PCR 試料の作製)

- 1) 適当なサイズに切断した試料を、マイクロチューブに入れる (対象により至適な試料量は異なります)。
- 2) 先に調製した CellEase®混合液を試料に添加します。
- 3) 72℃で 6 分間インキュベートします。
- 4) 94℃で 3 分間インキュベートします。
- 5) 上清 (DNA 抽出液) をテンプレート DNA とします。

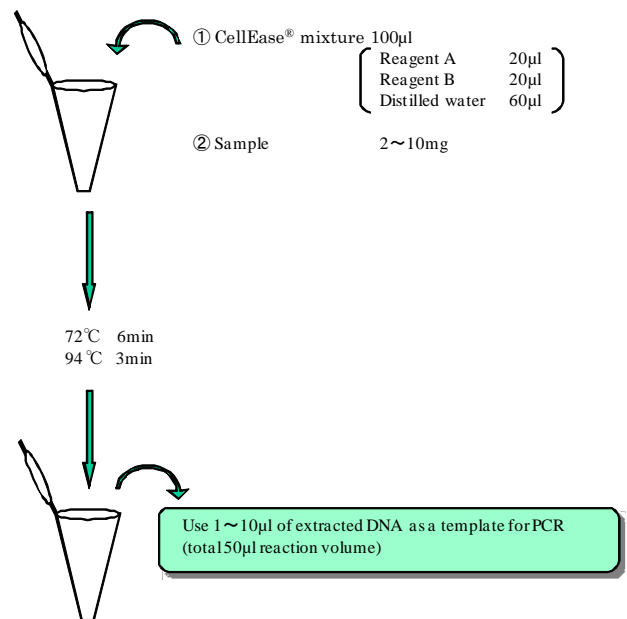
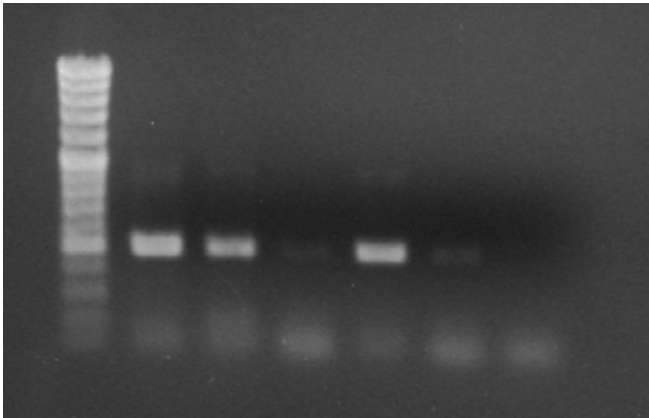


図 1 DNA 抽出のフロー

5. 使用上の注意事項

- 1) 試料には表皮、毛、骨等を多量に含まないものをご使用下さい。
- 2) 細かく切断した試料をご使用いただくと、より効率よくゲノム DNA を抽出することができます。
- 3) 試料の量に応じて、添加する CellEase®混合液を適宜調整して下さい。
- 4) 標準プロトコールにてゲノム DNA が抽出されない場合は、72℃でのインキュベート時間を延長することで改善されることがあります。
- 3) CellEase®混合液は、必ず所定の比率で調製してご使用下さい。
- 4) PCR 反応に供する DNA 抽出液は、総液量の 20% 以下として下さい。
- 5) DNA 抽出液は使用まで冷蔵で保存し、早めにご使用下さい。また、直ちに使用しない場合は、冷凍 (-20℃) にて保管して下さい。
- 6) DNA 抽出液に不溶物が含まれる場合は、遠心分離した上清をご使用下さい。
- 7) 本製品は試験研究用としてご使用下さい。研究目的以外の用途には使用しないで下さい。

M 1 2 3 4 5 6



M	Marker (100bp ladder)	
1	CellEase Tissue II による抽出液	原液
2	''	×10 倍希釈
3	''	×100 倍希釈
4	従来のCellEase TissueIによる抽出液	原液
5	''	×10 倍希釈
6	''	×100 倍希釈

※従来のCellEase TissueIによる抽出は、従来のCellEase Tissue での標準プロトコールに従っています。

※マウステールの量はサブリング毎に多少変動するうえ、試料の状態(骨や皮の割合)によってはバンドの濃さに若干の違いが出ることがあります。

従来のCellEase Tissueでは抽出液を×10以上希釈した場合、ほとんどバンドが確認できませんが、CellEase Tissue II では×10希釈でも明確にバンドが確認できています。

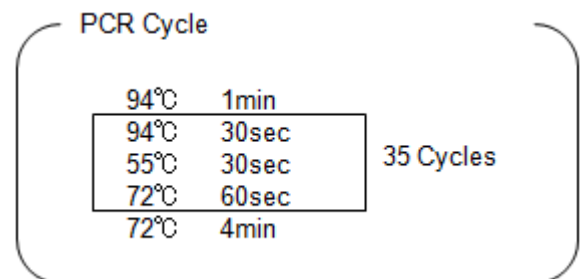
<プロトコール>

- 1) マウステールを 5mm 程度 (約 10mg) カットし、0.2ml のマイクロチューブに入れる。
- 2) 1 サンプルあたり、試薬 A 液 20µl, B 液 20µl と滅菌水 60µl を混合して CellEase® 混合液を調製する。
- 3) 1 サンプルに対し、CellEase®混合液 100ul を添加する。
- 4) 72°C で 6 分インキュベートし、つづいて 94°C で 3 分インキュベートする。
- 5) 反応液のうち 6ul を PCR 反応へ供する。

PCR reagent

6.0 ul	CellEase®処理液
5.0 ul	×10 buffer (+Mg ²⁺)
5.0 ul	dNTPs
1.0 ul	Forward Primer (10pmol/ul)
1.0 ul	Reverse Primer (10pmol/ul)
0.5 ul	Ex Taq (5 U/ul, タカラバイオ)

Total 50.0 ul となるように D.W. (滅菌水)を加える。



※その他のアプリケーションに関してや、ご不明な点などございましたら弊社までお問い合わせください。

※ CellEase® (セルイーズ®) は Biocosm(株)の登録商標です。

【製造元】

Biocosm Inc.

大阪市此花区島屋 4-2-7 SBI 320

TEL : 06-4307-3207

FAX : 06-4307-3226

e-mail : info@biocosm.co.jp

URL : http://www.biocosm.co.jp/

【販売元】

人と科学のステキな未来へ
コスモバイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル

URL : http://www.cosmobio.co.jp/

● 営業部 (お問い合わせ)

TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619

TEL : (03) 5632-9620