



1. Introduction

CellEase® Bacteria II is the reagent kit for extraction of genomic DNA from bacterial 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	: 100μl
Reagent B	: 100μl
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® Bacteria II directly to PCR. These CellEase® Bacteria II reagents don't include any toxic or harmful chemical compounds.

4. Use

Various bacteria, Yeast, etc. (Pretreatment (freeze and thawing) may necessary in case of yeast cells.)

5. Preparation

Prepare the CellEase® mixture before use. Mix well the reagent A, B (1:1). 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)
1	2	2
5	10	10
10	20	20
25	50	50
50	100	100

6. Standard protocol (DNA template for PCR)

1) If sample is bacterial colony, a little bacteria

picked up is dissolved in 100μl distilled water, add 5μl dissolved sample into micro tube. If sample is liquid culture, add 5μl dissolved sample into micro-tube. (The optimal sample amount will vary with the type of samples).

- 2) Add 4μl of 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.

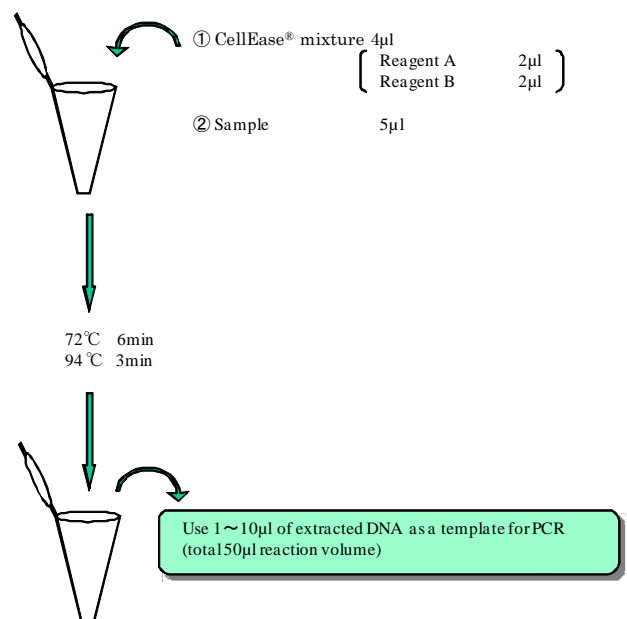


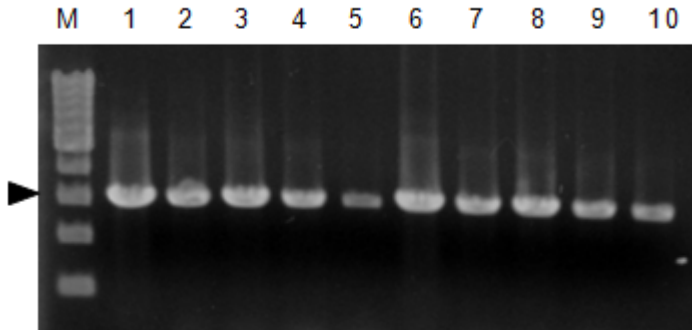
Fig. 1. The Schematic diagram for the extraction of DNA

5. Caution

- 1) You can adjust the volume of CellEase® mixture as amount of sample volume.
- 2) 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.
- 3) The rate of the mixture of reagent A, B and distilled water should be keep correctly.
- 4) The DNA extracts should be added less than 20% of the total volume of PCR.
- 5) The DNA extracts can be kept at 4°C for a few days. Alternatively it would be stored at -20°C until use.
- 6) If necessary, remove debris in DNA extraction fraction by using centrifugation.
- 7) CellEase® Bacteria II is for research use only. Please don't use CellEase® Bacteria II to the other purpose.



Culture (<i>Staphylococcus. aureus</i>)	
Temp.	30°C
Medium	LB
Time	18hr



M Marker(500bp ladder)
 1 Undiluted Sample Add 5µl of DNA extract to PCR
 2 × 10¹ dilution
 3 × 10² dilution
 4 × 10³ dilution
 5 × 10⁴ dilution
 6 Undiluted Sample Add 6µl of DNA extract to PCR
 7 × 10¹ dilution
 8 × 10² dilution
 9 × 10³ dilution
 10 × 10⁴ dilution

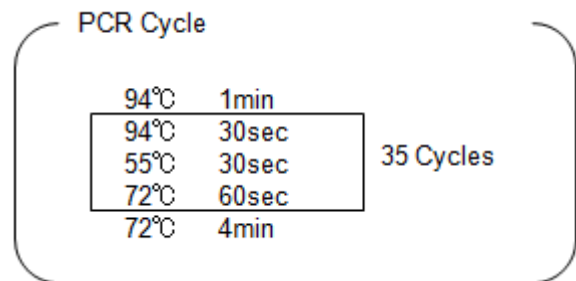
Protocol of CellEase Bacteria II

- 1) Mix the Reagent A and B (2ul Reagent A, 2ul Reagent B)
- 2) Directly or stepwise diluted Bacterial cells (5ul) were transferred to the tube (usually use 0.2ml or 0.5ml tubes for PCR).
- 3) Add 4ul of the mixture to the samples (5µl).
- 4) Incubate at 72°C for 6 minutes. Then incubate at 94°C for 3 minutes.
- 5) Transfer 5 or 6ul of extracts to PCR reaction mixture and amplify the target DNA fragment.

PCR reagent

5 or 6ul	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®Bacteria II は、微生物試料からゲノム 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	: 100μl
Reagent B	: 100μl (50 回分)
取扱説明書	: 1 部
保管温度	: 4℃

3. 原理

CellEase®Bacteria 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

各種ウイルス、バクテリア、酵母等。(酵母等の場合、凍結融解等の前処理が必要となる場合があります。)

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 を表 1 に従い 1:1 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)
1	2	2
5	10	10
10	20	20
25	50	50
50	100	100

6. 標準プロトコール (PCR 試料の作製)

- 1) 試料がコロニーの場合、100μl の滅菌水に菌体をごくわずかに懸濁し、そのうちの 5μl をマイクロチューブに分注します。試料が培養液の場合はそのまま 5μl をマイクロチューブに分注します。(最適な試料の量は試料の種類や細胞数等で変わります。)
- 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) 1~10μl をテンプレート DNA とします。

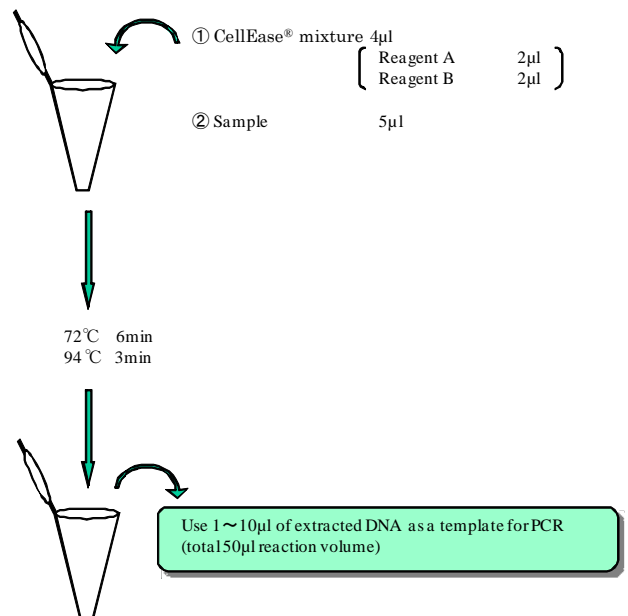
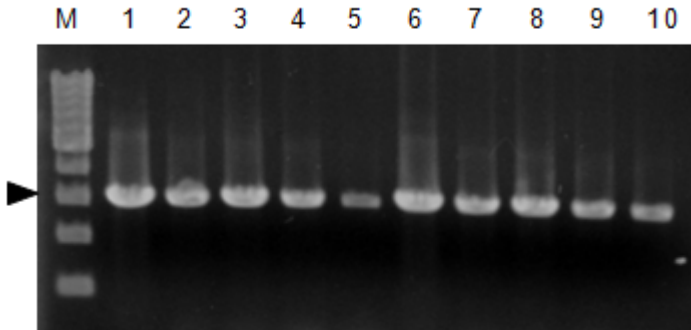


図 1 DNA 抽出のフロー

5. 使用上の注意事項

- 1) 試料の量に応じて、添加する CellEase®混合液を適宜調整して下さい。
- 2) 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。

*Staphylococcus aureus*の培養条件
温度 30℃
培地 LB培地
培養時間 18時間



M Marker(500bp ladder)
1 サンプル原液 抽出液5µlをPCRへ導入
2 ×10 希釈サンプル "
3 ×10²希釈サンプル "
4 ×10³希釈サンプル "
5 ×10⁴希釈サンプル "
6 サンプル原液 抽出液6µlをPCRへ導入
7 ×10 希釈サンプル "
8 ×10²希釈サンプル "
9 ×10³希釈サンプル "
10 ×10⁴希釈サンプル "

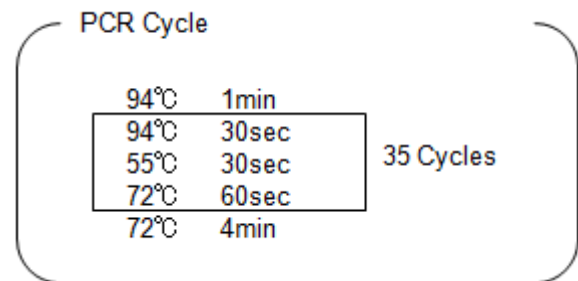
<プロトコール>

- 1) 1 サンプルあたり、試薬 A 液 2µl と B 液 2µl を混合して、CellEase®混合液を調製する。
- 2) *S. aureus* の培養液をそのまま、あるいは滅菌水に段階的に希釈、懸濁し、それぞれ 5ul を 0.2ml のチューブに取る。
- 3) 1 サンプル (5µl) に対し、CellEase®混合液 4ul を添加する。
- 4) 72℃で 6 分インキュベートし、つづいて 94℃で 3 分インキュベートする。
- 5) 反応液のうち 5~6ul を PCR 反応へ供する。

PCR reagent

5 or 6ul	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】



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】



〒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