



フィルタープラスミド DNA 抽出 Maxi キット

# Filter Plasmid DNA Extraction Maxi Kit

## 目次

基本データ	3
キットの内容	3
重要事項	4
操作	4
トラブルシューティング	7

\*本製品は研究用です\*





プラスミド DNA 抽出 Maxi キットは細菌培養液から高純度のプラスミド DNA を迅速に精製します。本キットでは、アルカリ溶解溶液と陰イオン交換樹脂を充填したカラムから構成されています。細菌を溶菌後、プラスミド DNA はカラムに吸着し、夾雑物は Wash Buffer で洗い流します。抽出したプラスミド DNA は即、トランスフェクション、in vitro 転写、翻訳、各種酵素処理などに使用できます。

#### ✚ 基本データ

サンプル	収量	所要時間
60～240 ml の培養液 (High-copy number)	1.5mg まで	2 時間程度
200～480 ml の培養液 (Low-copy number)		

\* 処理可能なプラスミドサイズは、100bp～10kb です。

#### ✚ キットの内容

	FAFTA 001 (4 preps)	FAFTA 001-1 (10 preps)
PEQ Buffer	55 ml	135 ml
PM1 Buffer	85 ml	215 ml
PM2 Buffer	85 ml	215 ml
PM3 Buffer	85 ml	215 ml
PW Buffer	130 ml	165 ml × 2
PEL Buffer	65 ml	215 ml
RNase A (50mg/ml)	170 μ l	430 μ l
FavorFilter Maxi Cartridge	4 pcs	10 pcs
PM Maxi Column	4 pcs	10 pcs

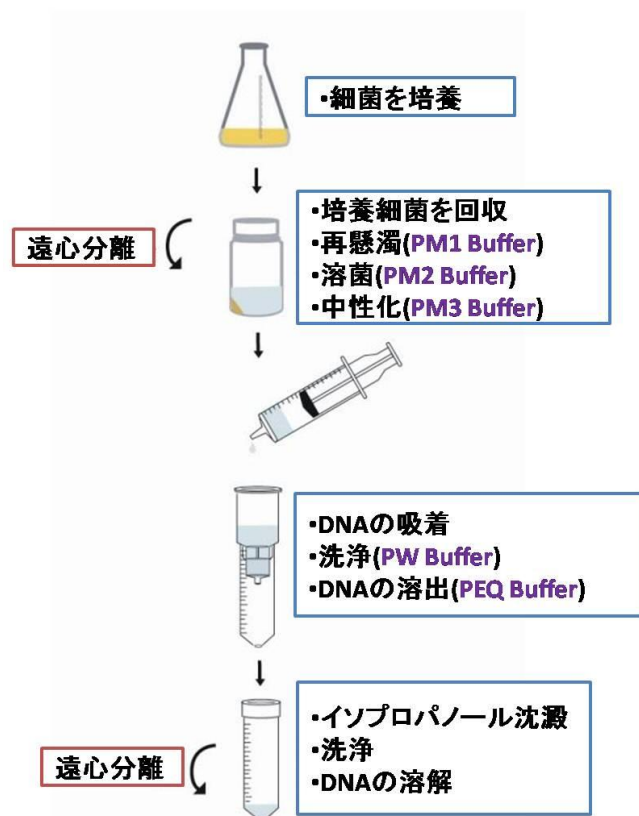
## 🌈 重要事項

- 1) RNase A を PM1 Buffer へ加えるときは、蓋の部分の水滴をスピンドウンしてから加え、添加後は、4°Cで保管してください。
- 2) PM2 Buffer を使用前に、沈殿物が形成していないか確認してください。沈殿している場合は、37°Cで温めて沈殿物を溶かしてから使用してください。
- 3) PM3 Buffer を 4°Cで冷やしてから使用してください。

## 🌈 その他用意するもの

50ml 遠心用チューブ  
イソプロパノール  
70% エタノール

## 🌈 操作



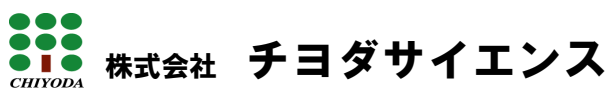
1. 培養液(最大 240ml)から細菌を  $6,000 \times g$  で 15 分遠心分離して回収します。  
\*240ml 以上 処理する場合は、PM1 Buffer, PM2 Budfer, PM3 Buffer を二倍量加えてください
2. PM Maxi Column を 50 ml の遠心用チューブに取り付けてください。
3. PEQ Buffer を 12.5ml 加え、カラムが空になるまで静置流出して平衡化します。
4. ろ液は捨てます。
5. 20 ml の PM1 Buffer(必ず RNase A を使用前に加えてください)を加え、細胞をピペッティングかボルテックスで再懸濁させます。
6. 20 ml の PM2 Buffer を加え、15 回ほど転倒混和します。このとき、ボルテックスはしないでください(DNA の剪断を防ぎます)。
7. 細胞溶解液が透明になるまで室温で約 5 分間インキュベートします。
8. インキュベート中にフィルターカートリッジを用意します。  
\* フィルターカートリッジの先端についているキャップを取り外し、プランジャーを抜きます。  
\* 先端にキャップを戻し、本体を適当なラックに垂直に立てます。
9. 20ml の PM3 Buffer を加え、10 回ほど転倒混和します(ボルテックスはしないでください)。
10. サンプル溶液をフィルターカートリッジへ移し、10 分間室温でインキュベートします。  
\* 10 分間インキュベートすることで、沈殿物を浮かび上がらせフィルターが目詰まりするのを防ぎます。
11. フィルターカートリッジのキャップを外し、プランジャーを取り付けます。ろ液を平衡化した PM Maxi Column へアプライし、自然落下させます。
12. ろ液は捨てます。
13. 30ml の PW Buffer を PM Maxi Column へ加えて自然落下させます。
14. ろ液を捨てます。
15. PM Maxi Column を新しい 50ml の遠心用チューブ(お客様でご用意ください。)に取り付け、15ml の PEL Buffer を加えて DNA を溶出します。

16. 11 ml のイソプロパノールを加え、10 回ほど転倒混和しよく混ぜます。
17. 4°C 20,000 × g で 30 分間遠心分離します。  
\* 20,000 × g 以下で遠心分離を行わないでください。
18. 上清を取り除き、DNA ペレットに 5 ml の 70%のエタノール(室温)を加え軽く混ぜます。
19. 4°C 20,000 × g で 10 分間遠心分離します。  
\* 20,000 × g 以下で遠心分離を行わないでください。
20. 上清を取り除き、チューブが完全に乾燥するまで DNA ペレットを風乾させます。または 70°C で 10 分インキュベートします。
21. DNA ペレットを適量(300μ l 程度)の TE Buffer や ddH<sub>2</sub>O に溶解させます。

## ✚ トラブルシューティング

トラブル	原因	解法
DNA の収量が少ない	細菌細胞が完全に溶解していない	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 菌濃度が濃すぎる。</li> <li>● PM3 Buffer を添加後、転倒混和で沈殿物を溶解すると回収量を改善できます。</li> </ul>
精製したプラスミドがその後のアプリケーションで良い結果を出せない	RNA が混入している	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 細菌を再懸濁させる時に、RNase A を PM1 Buffer に加える。RNase A を加えてから半年以上経過している場合は、RNase A を追加してください。</li> <li>● 過剰の細胞を使用せずに、サンプル量を減らしてください。</li> </ul>
	ゲノム DNA が混入している	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 過剰の細胞を使用しないでください。</li> <li>● PM2 Buffer や PM3 Buffer を加えた後は、ボルテックスせずに混和してください。</li> </ul>

日本総代理店



〒101-0032 東京都千代田区岩本町 2-13-11 TEL: 03(3864)7701 FAX: 03(3864)7752

E-mail: [technical@chiyoda-s.jp](mailto:technical@chiyoda-s.jp)

vol.1005-1

---

<http://www.chiyoda-s.jp>