

## FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Maxi Kit

Cat: FAPGK 000 Maxi(2 回分)/FAPGK 002(10 回分)/FAPGK 002-1(24 回分)

本製品は研究用です

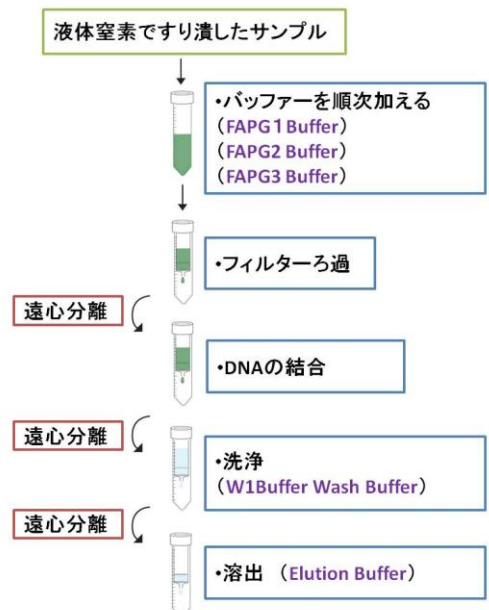
Vol.0315

### 🌈 キットの内容

	FAPGK 000 (2 preps_sample)	FAPGK 002 (10 preps)	FAPGK 002-1 (24 preps)
FAPG1 Buffer	10ml	45ml	110ml
FAPGX Buffer	10ml	45ml	110ml
FAPG2 Buffer	3ml	13ml	30ml
FAPG3 Buffer*	7.5ml	30ml	70ml
W1 Buffer**	7.0ml	33ml	88ml
Wash Buffer***	5.0ml	25ml	50ml
Elution Butter	6ml	30ml	60ml
RNase A (10mg/ml)	110μ l	550μ l	1300μ l
Filter Column	2pcs	10pcs	24pcs
FAPG Maxi Column	2pcs	10pcs	24pcs
<b>添加するエタノール量</b>			
FAPG3 Buffer*	15ml	60ml	140ml
W1 Buffer**	2.5ml	12ml	32ml
Wash Buffer***	20ml	100ml	200ml

### 🌈 基本情報

構成	スピナラム(シリカメンブレン)
サンプル量	最大 1g
操作時間	≤60 分
収量	50~300μ g



### 重要事項

1. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
2. FAPG1 Buffer に沈殿物がある場合は 60°C で 5 分間温めてください。
3. 操作前にドライバスもしくはウォーターバスを 65°C に温めてください。
4. FAPG 3 Buffer、W1 Buffer、Wash Buffer は開封時に 96~100%エタノール(お客様でご用意ください)を添加してください。
5. 遠心分離は、スイングバケットで 4,000~4,500 × g で行ってください。

### 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

ヒント:ドライバスまたはウォーターバスを 65°C に設定してください(ステップ 2、3 で使用します。)

Elution Buffer を 65°C に予熱してください。(ステップ 11 で使用します。)

1. 1g の新鮮・冷凍植物組織、または 50mg (最大 100mg まで) の乾燥させたサンプルを切り刻んでください。サンプルを液体窒素で粉碎し、15ml の新しいチューブ(お客様でご用意ください)に移します。  
\* 液体窒素で粉碎する操作は、全てのサンプルについて行う必要はありません。  
\* サンプルが溶けないうちにステップ 2 を行ってください。
2. 4ml の FAPG1 Buffer (もしくは FAPGX Buffer) と 50ul の RNase A (10mg/ml) を粉碎したサンプルに加え、ボルテックスで混和し、室温で 2 分間、65°C で 20 分間インキュベートします。インキュベート中 2-3 回ほど転倒混和させます。  
\* 多糖を多く含む植物組織の場合は FAPGX Buffer を使用してください。
3. 1ml の FAPG 2 Buffer を加えます。ボルテックスで混和し、氷上で 5 分間インキュベートします。
4. Filter Column を 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ取り付け、サンプル溶液を Filter Column へアプライします。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 5 分間遠心分離します。
5. 50ml チューブ中のサンプル溶液をの新しい 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ移します。FAPG3 Buffer をサンプル量に応じて加えるため、サンプル量を調節してください。  
メモ: サンプル溶液を新しいチューブに移す際に、サンプル片が混ざらないように注意してください。
6. サンプル溶液量に対し、1.5 倍量の FAPG3 Buffer(事前にエタノールを加えてください)を加え、10 秒間ボルテックスで混和してください。  
\* FAPG3 Buffer が開封時に 96-100%エタノールが加えられていることを確認してください。  
\* 例 5ml のサンプル溶液に対して 7.5ml の FAPG3 Buffer を加えてください。

7. FAPG Maxi Column を 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ取り付け、ステップ 6 のサンプル溶液(沈殿物も含めて)を FAPG Maxi Column へアプライします。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50ml チューブへ戻します。
8. FAPG Maxi Column へ 4ml の W1 Buffer (事前にエタノールを加えてください。)を加えます。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50ml チューブへ戻します。  
\* W1 Buffer が開封時に 96-100%エタノールが加えられていることを確認してください。
9. FAPG Maxi Column へ 6ml の Wash Buffer (事前にエタノールを加えてください。)を加えます。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50ml チューブへ戻します。  
\* Wash Buffer が開封時に 96-100%エタノールが加えられていることを確認してください。
10. さらに 10 分間スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で遠心分離し、FAPG Maxi Column を乾燥させます。  
\* この操作は酵素処理を阻害する物質を取り除くための重要なステップです。
11. FAPG-Maxi Column を新しい 50ml チューブ(お客様でご用意ください)へ取り付けてください。温めておいた 1ml の Elution Buffer もしくは ddH<sub>2</sub>O を FAPG Maxi Column の中央へアプライします。5 分間静置し、Elution Buffer を FAPG Maxi Column へ吸着させます。  
**重要なステップ!** : 効率よく溶出させるため、Elution Buffer もしくは ddH<sub>2</sub>O をカラム膜中央へアプライし、完全に吸着させてください。
12. スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 3 分間遠心分離し、DNA を溶出します。

🚩 **トラブルシューティング**

<b>収量が少ない</b>	
FAPG 3 Buffer もしくは Wash Buffer が正しく準備されていない	
FAPG 3 Buffer にエタノールが加えられていない	新しいサンプルで抽出し直してください。
W1 Buffer と Wash Buffer にエタノールが加えられていない	W1 Buffer と Wash Buffer に開封時に正しい分量のエタノールを添加しているか確認してください。新しいサンプルで抽出し直してください。
添加したエタノールの濃度もしくは分量に誤りがあった	開封時に加えるエタノールの分量とエタノール濃度(96-100%)が正しいか確認します。P1 の表を参考に正しい分量を加えてください。新しいサンプルで抽出し直してください。
<b>DNA 溶出が不十分</b>	
溶出に使用する ddH <sub>2</sub> O の pH が酸性だった	ddH <sub>2</sub> O の pH が 7.5-9.0 の間であることを確認してからご使用ください。もしくは、Elution Buffer(キットに付属しています。)をご使用ください。
Elution Buffer もしくは ddH <sub>2</sub> O がカラムのメンブレンに完全に吸着されていなかった	Elution Buffer もしくは ddH <sub>2</sub> O を加えた後、遠心分離をする前の FAPG Column を静置する時間を 5 分間に延長してください。
<b>カラムがつまる</b>	
サンプルに粘性がある	サンプルの量を減らしてください。
<b>DNA が変性している</b>	
サンプルが古い	DNA 抽出に使用するサンプルは新鮮なものか保存状態が良いものをご使用ください。
電気泳動の Buffer が DNase でコンタミしていた	新しい電気泳動 Buffer をご使用ください。