

## FavorPrep™ Stool DNA Extraction Mini Kit

Cat: FASTI 000 Mini, 4 回分/FASTI 001(50 回分)/FASTI 001-1(100 回分)

本製品は研究用です

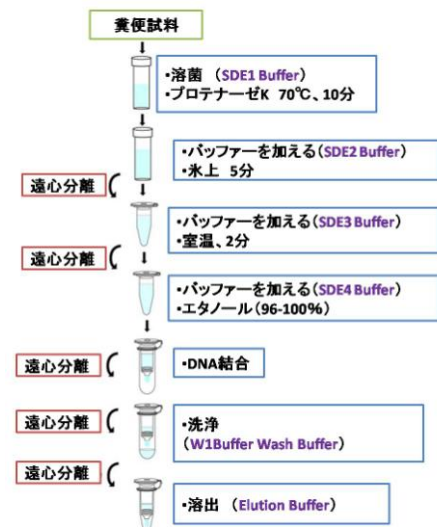
Vol.0515

### 🌈 キットの内容

	FASTI 000 (4 preps_sample)	FASTI 001 (50 preps)	FASTI 001-1 (100 preps)
Glass Beads	1g	12g	25g
SDE1 Buffer	1.8ml	20ml	40ml
SDE2 Buffer	1.2ml	7ml	14ml
SDE3 Buffer	1.2ml	15ml	30ml
SDE4 Buffer	3ml	20ml	40ml
Wash Buffer*	1.5ml	20ml	35ml
Elution Buffer	1.5ml	15ml	30ml
Proteinase K**	1.1mg	11mg	11mg × 2
SDE Mini Column	4 pcs	50pcs	100pcs
Collection Tube	8 pcs	100pcs	200pcs
Elution Tube	4pcs	50pcs	100pcs
Bead Tube	4 pcs	50pcs	100pcs
添加するエタノール量			
Wash Buffer*	6 ml	80 ml	140 ml
添加する ddH2O 量			
Proteinase K**	0.11ml	1.1ml	1.1ml × 2

### 🌈 基本情報

構成	スピнкаラム(シリカメンブレン)
サンプル量	50~100mg
操作時間	<60 分
溶出量	50~200µ l



### 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. SDE1 Buffer に沈殿が生じている場合は、60°Cで 10 分間温めてから使用してください。
3. ddH<sub>2</sub>O を Proteinase K へ加え、10mg/ml へ調整してください。ボルテックスで完全に混和させ、調整後は4°Cで保管してください。
4. Wash Buffer は開封時にエタノール(96-100%)を加えてください。
5. 操作を始める前に、ドライバスもしくはウォーターバスを 60°Cに設定してください。グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、95°Cに設定したドライバスもしくはウォーターバスも用意してください。
6. 遠心分離は、最大速度(~18,000 × g)で行ってください。
7. 操作を始める前に、Elution Buffer もしくは ddH<sub>2</sub>O を 60°Cに温めてください。

### 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 200mg の Glass Beads を 2.0ml の Bead Tube へ加えてください。50-100mg の試料を Beads Tube へ加え、氷上に静置します。  
\* サンプルが液状の場合は 200μ l 加えてください。
2. 300μ l の SDE1 Buffer と 20μ l の Proteinase K (10mg/ml) を加え、5 分間ボルテックスを行います。サンプルを 60°Cで 20 分間インキュベートします (インキュベート中、5 回程度取り出し、ボルテックスしてください。)  
\* サンプルを完全に混和してください。  
\* グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、さらに 95°Cで 5 分間インキュベートしてください。
3. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
4. サンプルを冷まし、100μ l の SDE2 Buffer をサンプルに加えボルテックスし、氷上で 5 分間サンプルをインキュベートします。
5. 最大速度(~18,000 × g)で 5 分間遠心分離します。
6. 上清を 1.5ml のチューブ(お客様でご用意ください)へ移し、ペレットは捨てます。  
\* ペレットが混入しないようにしてください。
7. 200μ l の SDE3 buffer をサンプルに加え、ボルテックスでよく混ぜます。室温で 2 分間インキュベートします。  
メモ: SDE3 Buffer は使用前によくボルテックスし、沈殿物を溶解します。  
\* SDE3 Buffer を攪拌する際は、1ml のチップの先端を切ってピペティングするとよく攪拌できます。
8. 最大速度(~18,000 × g)で 2 分間遠心分離します。

9. 250 $\mu$ l の上清を、新しい 1.5ml チューブ(お客様でご用意ください)へ移し、ペレットを捨てます。  
\* ペレット断片を混入しないようにしてください。
10. <RNA-free genomic DNA を抽出する場合のオプションステップ>  
1 $\mu$ l の RNase A (100mg/ml:お客様でご用意ください)をサンプルに加え、室温で 2 分間インキュベートしてください。
11. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
12. 250 $\mu$ l の SDE4 Buffer と 250 $\mu$ l のエタノール(96-100%)を加え、パルスボルテックスを行います。
13. SDE カラムをコレクションチューブに取り付け、サンプル溶液を加えます。最大速度( $\sim 18,000 \times g$ )で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。SDE column を新しい Collection Tube に取り付けます。
14. 750 $\mu$ l の Wash Buffer (事前にエタノールを加えてください)を SDE column 加えます。最大速度( $\sim 18,000 \times g$ )で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。SDE column を Collection Tube へ戻します。
15. この操作をもう一度繰り返します。
16. 最大速度( $\sim 18,000 \times g$ )で 3 分間遠心分離し、SDE 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。
17. SDE Column を Elution Tube につけ、50-200 $\mu$ l の温めた Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O を加え、室温で 2 分間放置します。  
\* 効率よく溶出させるために重要なステップです。Elution Buffer をカラム膜中央へ加え、完全に吸着させてください。
18. 最大速度( $\sim 18,000 \times g$ )で 1 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

トラブル	原因	解法
<b>収量が少ない</b>		
	サンプルの保管方法が不適切	サンプルは-20°Cで保管する
	サンプル中の細胞が少ない	サンプル量を増やす
<b>細胞が溶解していない</b>	サンプルのホモジナイズが不足	ホモジナイズの時間を長くする
	SDE1、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルテックスでよく混和する
	Proteinase K が機能していない	新しい ProteinaseK を使用する
<b>DNA がカラムに吸着していない</b>	サンプルにエタノールを加えていない	サンプルを SDE Mini カラムへ加える前にエタノールを加える
	サンプルとエタノールが十分に混ざっていない	サンプルを SDE Mini カラムへ加える前にエタノールと完全に混ざっているか確認する
<b>Wash Buffer が正しく準備されていない</b>	Wash Buffer にエタノールが加えられていない	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
	Wash Buffer に正しい量のエタノールが加えられていない	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
<b>DNA の溶出が不十分</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>DNA の精製度が低い</b>		
<b>A260/A280 の値が低い</b>	サンプルのホモジナイズが不足	ホモジナイズの時間を長くする
	SDE1、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルテックスで混合液をよく混和する

	Proteinase K が機能していない	新しい ProteinaseK を使用する
A260/A280 の値が高い	RNA がコンタミしている	RNase A(50mg/ml)を 8μl 溶出した DNA に加え 37°Cで 10 分間インキュベートし、SD2 Buffer とエタノールを 200μl ずつ加え、パルスボルテックスでよく混和しますその後、ステップ 7 より再度行ってください