

FavorPrep™ Blood/Cultured Cell Genomic DNA Extraction Maxi Kit

Cat: FABGK 000-Maxi (2 回分) / FABGK 003 (10 回分) / FABGK 003-1 (24 回分)

本製品は研究用です

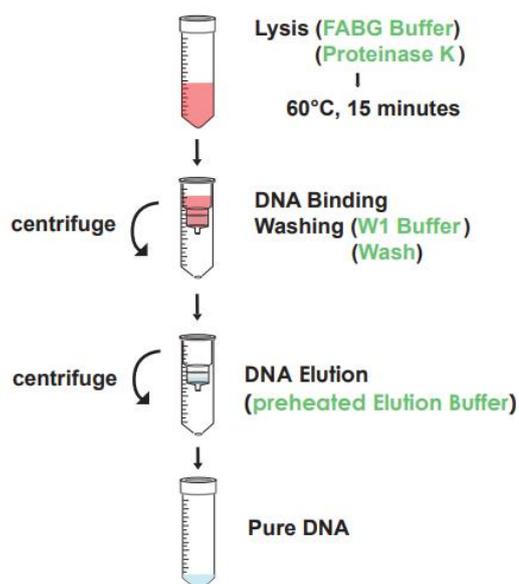
v 230209

📌 キットの内容

	FABGK 000-Maxi (2 preps_sample)	FABGK 003 (10 preps)	FABGK 003-1 (24 preps)
FABG Buffer	22 ml	110 ml	265 ml
W1 Buffer (concentrate)*	6.5 ml	33 ml	88 ml
Wash Buffer (concentrate)*	3 ml	20 ml	40 ml
Elution Buffer	6 ml	30 ml	60 ml
Proteinase K**	11 mg × 2	11 mg × 10	11 mg × 24
FABG Maxi Column	2 pcs	10 pcs	24 pcs
Elution Tube (50 ml tube)	2 pcs	10 pcs	24 pcs
*添加する 96-100%エタノール量			
W1 Buffer	2.5 ml	12 ml	32 ml
Wash Buffer	12 ml	80 ml	160 ml
**添加する ddH₂O			
Proteinase K	0.5 ml × 2	0.5 ml × 10	0.5 ml × 24

📌 基本情報

構成	スピナラム (シリカメンブレン)
サンプル量	新鮮 または 凍結血液: 最大 10 ml 培養細胞: 最大 1×10^8
結合量	500 μ g DNA
平均収量	35 μ g/1ml 全血
操作時間	1 時間
溶出量	0.75-1.5 ml



📌 用意するもの

1. ピペット、ピペットチップ
2. 4,000 × g まで到達可能な遠心機
3. サーモインキュベーター
4. 真空オープン (ステップ 9 で必要な場合)
5. エタノール (96-100%)
6. ボルテックスミキサー

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. サーモインキュベーターを 60°C に予熱してください。
3. スイングローター式の遠心機を使用し、4,000~6,000 × g で遠心分離を行ってください。
4. 500 μl の滅菌済 ddH₂O を Proteinase K へ加え、22 mg/ml に調製します。ボルテックスで十分に混和し、完全に溶解していることを確認してください。調製後は 4°C で保管してください。
5. ステップ 11 で使用する Elution Buffer または ddH₂O は予め温めてください。

操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

<血液>

1. 最大 10 ml のサンプル（全血・バフィーコート）をチューブ（お客様でご用意ください）へ移します。
* サンプルが 10 ml 以下の場合は PBS を加え、10 ml に調整してください。
2. 500 μl の Proteinase K (20 mg/ml) を加え、ボルテックスで十分に混和します。その後、10 ml の FABG Buffer を加えてパルスボルテックスで十分に混和します。
* Proteinase K を FABG Buffer に直接添加しないでください。
3. サンプル混合物を 60°C で 15 分間インキュベートし、溶解させます。インキュベート中は 3~5 分毎にチューブを転倒混和してください。
4. <オプション> RNA-free genomic DNA を抽出する場合
80 μl の RNase A (100 mg/ml, お客様でご用意ください) を加え、室温で 10 分間インキュベートします。
5. 10 ml のエタノール (96-100%) を加え、ボルテックスで十分に混和します。沈殿が生じた場合は、ピペティングにより除去してください。
6. FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブ（お客様でご用意ください）に取り付け、15 ml のサンプル混合物（沈殿を含む）を慎重に移します。キャップを閉め、4,000~6,000 × g で 3 分間遠心分離します。
7. ろ液を捨て、残りのサンプル混合物も FABG Maxi Column に加えます。キャップを閉め、4,000~6,000 × g で 3 分間遠心分離します。ろ液は捨てます。
8. 4 ml の W1 Buffer を加え、キャップを閉めて 4,000~6,000 × g で 3 分間遠心分離します。ろ液は捨て、FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブへ戻します。
* W1 Buffer にエタノール (96-100%) が添加されていることを確認してください。
9. 7 ml の Wash Buffer を加え、キャップを閉めて 4,000~6,000 × g で 15 分間遠心分離します。ろ液は捨て、

FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブへ戻します。

* Wash Buffer にエタノール (96-100%) が添加されていることを確認してください。

重要ステップ! : 液体が完全に除去されたことを確認してください。残液がある場合は 70°C の真空オーブンで 3 分間カラムを乾燥させます。

10. FABG Maxi Column を Elution Tube (キットに付属) に取り付けます。
11. 0.75-1.5 ml の温めておいた Elution Buffer または ddH₂O (pH 7.5-9.0) を FABG Maxi Column の膜中央に添加し、室温で 5 分間静置します。
重要ステップ! : Elution Buffer が完全に吸着させるために、5 分間の静置が必要です。
* 標準的な溶出量は 1 ml です。より多くの DNA 収量が必要な場合はステップ 11 を繰り返してください。
12. 4,000 × g で 2 分間遠心分離し、トータル DNA を溶出します。

<培養細胞>

1. 1×10^8 の細胞を 50 ml 遠心チューブ (お客様でご用意ください) に移します。4,000~6,000 × g で 5 分間遠心分離し、細胞をペレット化します。(接着している細胞を使用する場合は、トリプシン処理をしてから採取してください)
2. 10 ml の PBS で再懸濁します。
3. <血液> のステップ 4 へ進みます。

🚩 トラブルシューティング

収量が十分でない	
細胞の溶解が不十分	
Proteinase K 活性が十分ではない	<ul style="list-style-type: none"> ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。 ・新鮮 または 適切に保存された Proteinase K 溶液を使用する。
FABG Buffer と混和が不十分	<ul style="list-style-type: none"> ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。 ・サンプルと FABG Buffer をすぐに十分にパルスボルテックスで混和する。
インキュベートが不十分	<ul style="list-style-type: none"> ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。 ・インキュベート時間を延長し、溶け残りが無いことを確認する。
FABG Maxi Column に移す前にエタノールが添加されていない	新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。
Wash Buffer の調製が不適切	
W1, Wash Buffer にエタノールが添加されていない	<ul style="list-style-type: none"> ・W1, Wash Buffer にエタノール (96-100%) が添加されていることを確認する。 ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。
W1, Wash Buffer に添加するエタノールの容量 または 割合が正しくない	<ul style="list-style-type: none"> ・W1, Wash Buffer にエタノール (96-100%) が添加されていることを確認する。 ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。
ゲノム DNA の溶出効率が悪い	
溶出に使用する水 (ddH ₂ O) の pH が酸性である	ddH ₂ O の pH が 7.5-9.0 であることを確認する。
	キットに付属の Elution Buffer を使用する。
Elution Buffer または ddH ₂ O が完全に吸着していない	Elution Buffer または ddH ₂ O を添加後、FABG Maxi Column を 5 分間静置し、遠心分離を行う。
カラムが詰まっている	
血液サンプルに血栓が含まれている	<ul style="list-style-type: none"> ・新しいサンプルで抽出操作を繰り返す。 ・血液サンプルは抗凝固剤とよく混ぜ合わせ、血液の凝固を防止する。
サンプルの粘度が高い	サンプルの量を減らす。
溶出した DNA の分解	
サンプルが古い	ゲノム DNA は常に新鮮なもの または 保存状態の良いものを使用する。
ゲル電気泳動用バッファーに DNase が混入している	ゲル電気泳動に使用するバッファーは新しいものを使用する。