

## FavorPrep™ 96-Well PCR Clean-Up Kit

Cat: FACKE 96001 (1 回分) / FACKE 96002 (2 回分) / FACKE 96004 (4 回分)

本製品は研究用です

v 230217

### 🌈 キットの内容

	FACKE 96001 (1 prep)	FACKE 96002 (2 preps)	FACKE 96004 (4 preps)
FAPC Buffer	60 ml	120 ml	120 ml × 2
Wash Buffer (concentrated)*	15 ml	30 ml	30 ml × 2
Elution Buffer	15 ml	30 ml	30 ml × 2
Filter Plate (96-Well DNA Binding Plate)	1 plate	2 plates	4 plates
Collection Plate (96-Well 2ml Plate)	3 plates	6 plates	12 plates
Elution Plate (96-Well PCR Plate)	1 plate	2 plates	4 plates
Adhesive Film	2 pcs	4 pcs	8 pcs
<b>*添加する 96-100%エタノール量</b>			
Wash Buffer (concentrated)	60 ml	120 ml	120 ml × 2

### 🌈 基本情報

構成	シリカメンブレン (フィルタープレート)
サンプル量	10~100 $\mu$ l (PCR 産物 または 酵素反応物)
DNA サイズ	65 bp~10kbp
所要時間	<45 分 /96 preparations
結合量	最大 20 $\mu$ g /well
溶出量	50~75 $\mu$ l
A260/A280	1.7~1.8
方法	遠心法 もしくは 吸引法
ダウンストリームアプリケーション	蛍光または放射性物質によるシーケンス 制限酵素分解 ライブラリースクリーニング ライゲーション ラベリング 形質転換

• STEP 1. Sample preparation

Transfer samples in a Collection Plate (first Collection Plate)



Add FAPC Buffer



Mix by pipetting



Vacuum protocol

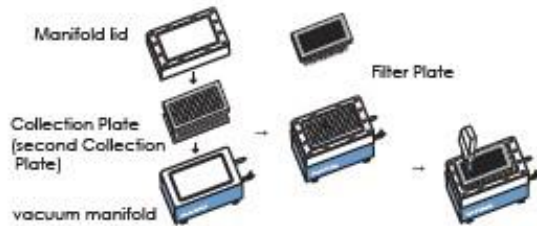


Centrifuge protocol

• STEP 2. Bind DNA to Filter Plate:

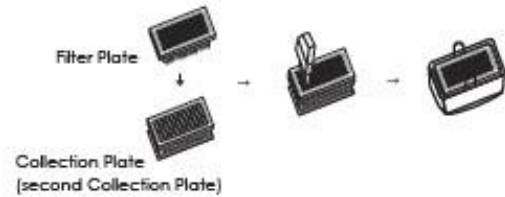
**Vacuum processing**

- Transfer the sample mixture to Filter plate.
- Apply -12 inches Hg vacuum until the wells have emptied.



**Centrifuge processing**

- Transfer the sample mixture to Filter plate.
- Centrifuge at 4,500 ~ 6,000 x g for 2 min.



• STEP 3. Wash the Filter Plate with Wash Buffer

- Add Wash Buffer. Apply vacuum at -12 inches for 2 min



- Add Wash Buffer. Centrifuge at 5,600 - 6,000 x g for 10 min



• STEP 4. Dry the membranes of the Filter Plate:

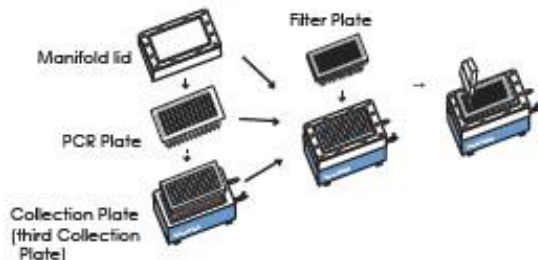
- Tap the Filter Plate tips on paper towel
- Return the Filter Plate and the second Collection Plate back to the manifold.
- Apply vacuum at -12 inches Hg for an additional 10 min.

- Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 5 min.

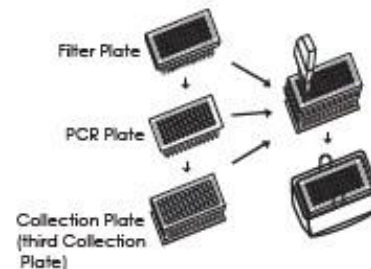
• STEP 5. DNA Elution:

- Add Elution Buffer to the Filter Plate. Stand for 3 min.
- Close the manifold valve. Turn on the vacuum source to build up a vacuum to -12 inches Hg.
- Open the manifold valve to apply vacuum to elute DNA.

**Alternative:** If the consistent volume of elutes are recommend, use centrifuge processing for this elution step. (Page 3, STEP 6)



- Add Elution Buffer to the Filter Plate. Stand for 3 min.
- Centrifuge to elute DNA.



### 🚩 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. Buffer を安全に取り扱うために、手順を開始する前に安全情報（製品付属の英語版プロトコール）をお読みください。
3. Wash Buffer は開封時にエタノール（96～100%）を添加してください。
4. FAPC Buffer に沈殿がある場合は 60℃で 5 分間温めてください。
5. 本キットの構成は 15～25℃で保存してください。

### 🚩 用意するもの

- 1) 滅菌済みのピペット、ピペットチップ
- 2) エタノール（96-100%）
- 3) 5,600～6,000 × g に到達可能なスイングバケット式遠心機、96-Well Plate 対応のアダプター  
吸引法を用いる場合
- 4) 96-Well Plate 対応のバキュームマニホールド、-12inHg に到達可能な真空ポンプ

### 🚩 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

#### <吸引法>

#### STEP 1. サンプルの調製

- ・ 10～100  $\mu$ l のサンプルを Collection Plate（キットに付属）の各ウェルに移します。
- ・ 各ウェルに 5 倍量の FAPC Buffer を加え、ピペッティングにより完全に混和します。  
例) 100  $\mu$ l のサンプルに対し、500  $\mu$ l の FAPC Buffer を加える。

#### STEP 2. DNA の結合

- ・ 新しい Collection Plate（キットに付属、2 枚目）をバキュームマニホールドに取り付け、カバーで固定します。その上に Filter Plate（キットに付属）を取り付けます。
- ・ サンプル混合物を Filter Plate に移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。
- ・ ウェルが空になるまで-12inHg で真空引きをします。
- ・ バキュームマニホールドを真空から解放します。
- ・ ろ液を捨て、Filter Plate と Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。

#### STEP 3. Filter Plate の洗浄

- ・ Filter Plate の各ウェルに 500  $\mu$ l の Wash Buffer（エタノール添加）を加えます。
- ・ -12inHg で 2 分間真空引きをします。
- ・ バキュームマニホールドを真空から解放します。
- ・ ろ液を捨て、Filter Plate と Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。

#### STEP 4. Filter Plate の乾燥

- Filter Plate の先端を清潔なペーパータオルで軽くたたき、残った液体を取り除きます。
- Filter Plate を Collection Plate に戻します。
- -12inHg で 10 分間真空引きをします。
- バキュームマニホールドを真空から解放します。
- ろ液と 2 枚目の Collection Plate を捨てます。

#### STEP 5. 溶出

代替方法: 一定量の溶出液が推奨される場合は、〈遠心法〉の STEP 5 の方法で溶出してください。

- Elution Plate (キットに付属) を新しい Collection Plate (キットに付属、3 枚目) に取り付けます。バキュームマニホールドにカバーで固定し、その上に Filter Plate を取り付けます。(上: Filter Plate 中: Elution Plate 下: Collection Plate)
- 50~75  $\mu$ l の Elution Buffer を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。  
メモ: 溶出液は Elution Buffer の添加量よりも平均で約 25  $\mu$ l 少なくなります。  
例) 50  $\mu$ l の Elution Buffer に対して ~25  $\mu$ l の溶出液が回収できます。  
メモ: 50  $\mu$ l 以下の Elution Buffer で溶出しないでください。収量が減少する恐れがあります。  
メモ: 効果的な溶出のため、Elution Buffer が完全に吸着したことを確認してください。  
メモ: >5kbp の DNA 断片の場合、70°C に予熱した Elution Buffer の使用により回収量が増加します。
- バキュームマニホールドのバルブを閉じ、-12inHg で真空引きをします。
- バルブを開き、DNA を溶出します。
- バキュームマニホールドを真空から解放します。
- Elution Plate を取り出し、Adhesive Film (キットに付属) で封をします。
- 精製後の DNA を -20°C で保管します。

#### 〈遠心法〉

##### STEP 1. サンプルの調製

- 10~100  $\mu$ l のサンプルを Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。
- 各ウェルに 5 倍量の FAPC Buffer を加え、ピペッティングにより完全に混和します。  
例) 100  $\mu$ l のサンプルに対し、500  $\mu$ l の FAPC Buffer を加える。

##### STEP 2. DNA の結合

- Filter Plate (キットに付属) を新しい Collection Plate (キットに付属、2 枚目) に取り付けます。
- サンプル混合物を Filter Plate の各ウェルに移し、Collection Plate (1 枚目) を捨てます。
- 組み合わせたプレートを 5,600~6,000  $\times$  g で 2 分間遠心分離します。
- ろ液を捨て、Filter Plate を Collection Plate に戻します。

### STEP 3. Filter Plate の洗浄

- ・ 500  $\mu$ l の Wash Buffer (エタノール添加) を Filter Plate の各ウェルに加えます。
- ・ 5,600~6,000  $\times$  g で 10 分間遠心分離します。
- ・ ろ液を捨て、Filter Plate を Collection Plate に戻します。

### STEP 4. Filter Plate の乾燥

Filter Plate をペーパータオル (お客様でご用意ください) の上に置き、室温で 5 分間静置します。

### STEP 5. 溶出

- ・ Elution Plate (キットに付属) を新しい Collection Plate (キットに付属、3 枚目) に取り付け、その上に Filter Plate を取り付けます。(上: Filter Plate 中: Elution Plate 下: Collection Plate)
- ・ 50~75  $\mu$ l の Elution Buffer を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。  
メモ: 溶出液は Elution Buffer の添加量よりも平均で約 25  $\mu$ l 少なくなります。  
例) 50  $\mu$ l の Elution Buffer に対して ~25  $\mu$ l の溶出液が回収できます。  
メモ: 50  $\mu$ l 以下の Elution Buffer で溶出しないでください。収量が減少する恐れがあります。  
メモ: 効果的な溶出のため、Elution Buffer が完全に吸着したことを確認してください。  
メモ: >5kbp の DNA 断片の場合、70°C に予熱した Elution Buffer の使用により回収量が増加します。
- ・ 組み合わせたプレートを 5,600~6,000  $\times$  g で 5 分間遠心分離し、DNA を溶出します。
- ・ Elution Plate を取り出し、Adhesive Film (キットに付属) で封をします。
- ・ 精製後の DNA は -20°C で保管します。