

FavorPrep™ 96-Well Genomic DNA Kit

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

本製品は研究用です

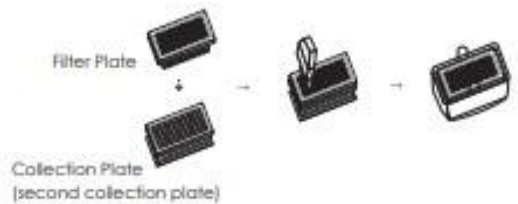

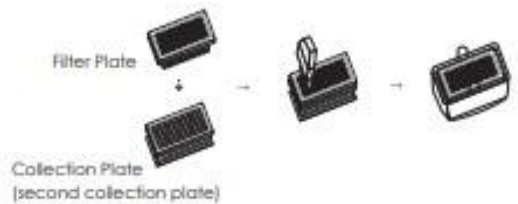

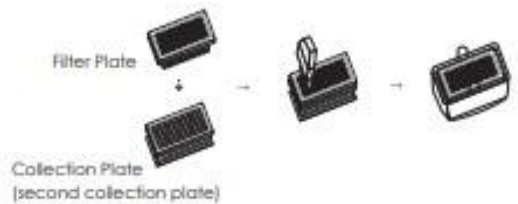







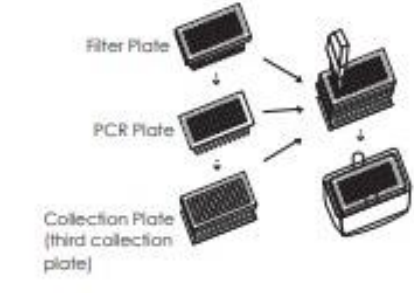

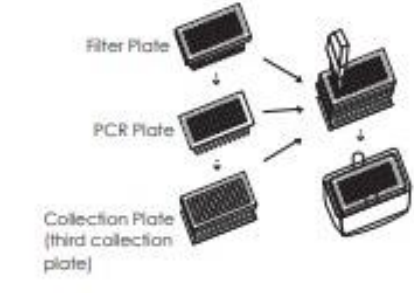

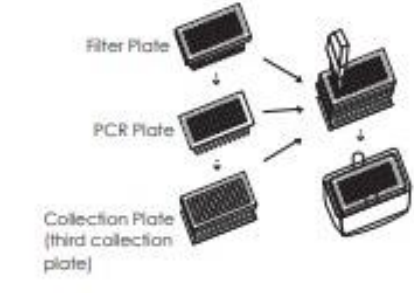

v 221116

📦 キットの内容

	FADWE 96001 (1 prep)	FADWE 96002 (2 preps)	FADWE 96004 (4 preps)
FATG1 Buffer	40 ml	80 ml	80 ml × 2
FATG2 Buffer	40 ml	80 ml	80 ml × 2
W1 Buffer (concentrated)*	44 ml	88 ml	88 ml × 2
Wash Buffer (concentrated)*	17.5 ml	35 ml	35 ml × 2
Elution Buffer	30 ml	60 ml	60 ml × 2
Proteinase K**	24 mg	48 mg	48 mg × 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
*添加する 96-100%エタノール量			
W1 Buffer (concentrated)	16 ml	32 ml	32 ml × 2
Wash Buffer (concentrated)	70 ml	140 ml	140 ml × 2
*添加する ddH₂O 量			
Proteinase K	2.4 ml	4.8 ml	4.8 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 /preparation	新鮮/凍結血液、バフィーコート、血清、血漿、体液: 最大 200 μl 動物組織: 最大 25 mg 動物培養細胞: 最大 5 × 10 ⁶
所要時間	90 分以内 /96 preparations
結合量	最大 30 μg /well
溶出量	75-200 μl
方法	遠心法 もしくは 吸引法

<p>• STEP 1. Sample preparation and lysis</p> <p>For whole blood, buffy coat, serum, plasma, body fluids</p> <ul style="list-style-type: none"> • Add Proteinase K to a Collection Plate (first collection plate) • Add sample • Add FATG2 Buffer and mix completely • Seal with Adhesive Film. • Incubate the plate with shaking at 60°C for 20 min 					
<p>For aminam tissues and cultured cells</p> <ul style="list-style-type: none"> • Collect samples in a Collection Plate (first collection plate) • Add FATG1 Buffer and Proteinase K • Seal with Adhesive Film. Incubate the plate with shaking at 60°C for 1~2 hrs • Add FATG2 Buffer and mix completely • Seal with Adhesive Film. Further incubate the plate at 70°C for 20 min 					
<p>• STEP 2. Adjust binding condition:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Add ethanol • Mix by pipetting 					
<p>• STEP 3. Bind DNA to Filter Plate:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>centrifuge protocol</th> <th>vacuum protocol</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Combine the plates. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Centrifuge at 4,500 ~ 6,000 x g for 5 min.  </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Fix Plates to manifold. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Apply 10 inches Hg vacuum until the wells have emptied.  </td> </tr> </tbody> </table>		centrifuge protocol	vacuum protocol	<ul style="list-style-type: none"> • Combine the plates. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Centrifuge at 4,500 ~ 6,000 x g for 5 min. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fix Plates to manifold. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Apply 10 inches Hg vacuum until the wells have emptied. 
centrifuge protocol	vacuum protocol				
<ul style="list-style-type: none"> • Combine the plates. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Centrifuge at 4,500 ~ 6,000 x g for 5 min. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fix Plates to manifold. • Transfer the sample mixture to Filter plate. • Apply 10 inches Hg vacuum until the wells have emptied. 				
<p>• STEP 4. Wash the Filter Plate Twice (W1 Buffer and Wash Buffer)</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 2 min • Add Wash Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 15 min  </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg. • Add Wash Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg for 10 min.  </td> </tr> </tbody> </table>		<ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 2 min • Add Wash Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 15 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg. • Add Wash Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg for 10 min. 		
<ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 2 min • Add Wash Buffer. Centrifuge at 5,600 ~ 6,000 x g for 15 min 	<ul style="list-style-type: none"> • Add W1 Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg. • Add Wash Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg for 10 min. 				
<p>• STEP 5. Dry the membranes of Filter Plate:</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 10 min. </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Tap the Filter Plate tips on paper towel • Return the Filter Plate and the Collection Plate to the manifold. • Apply maximum vacuum for an additional 10 min. </td> </tr> </tbody> </table>		<ul style="list-style-type: none"> • Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 10 min. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tap the Filter Plate tips on paper towel • Return the Filter Plate and the Collection Plate to the manifold. • Apply maximum vacuum for an additional 10 min. 		
<ul style="list-style-type: none"> • Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 10 min. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tap the Filter Plate tips on paper towel • Return the Filter Plate and the Collection Plate to the manifold. • Apply maximum vacuum for an additional 10 min. 				
<p>• STEP 6. DNA Elution:</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Centrifuge to elute DNA.  </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Close the manifold valve. Turn on the vacuum source to build up a vacuum to 15 inches Hg. • Open the manifold valve to apply vacuum to elute DNA. <p>Alternative: If the consistent volume of elutes are recommend use centrifuge protocol to proceed this elution step. (Page 3, STEP 6)</p>  </td> </tr> </tbody> </table>		<ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Centrifuge to elute DNA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Close the manifold valve. Turn on the vacuum source to build up a vacuum to 15 inches Hg. • Open the manifold valve to apply vacuum to elute DNA. <p>Alternative: If the consistent volume of elutes are recommend use centrifuge protocol to proceed this elution step. (Page 3, STEP 6)</p> 		
<ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Centrifuge to elute DNA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 min. • Close the manifold valve. Turn on the vacuum source to build up a vacuum to 15 inches Hg. • Open the manifold valve to apply vacuum to elute DNA. <p>Alternative: If the consistent volume of elutes are recommend use centrifuge protocol to proceed this elution step. (Page 3, STEP 6)</p> 				

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. 本書に記載されている最大サイズを超えるサンプルは使用しないでください。
3. W1Buffer および Wash Buffer は開封時にエタノール（96～100%）を添加してください。
4. Proteinase K に ddH₂O を加え、10 mg/ml の Proteinase K 溶液を調整してください。調製後は 4℃で保管してください。
5. インキュベーター または オープンを 60℃ および 70℃に設定してから操作してください。
6. Elution Buffer または ddH₂O を 70℃に予熱してください。（STEP 6 で使用）

用意するもの

- 1) エタノール（96-100%）
- 2) シェーカーインキュベーター または オープン（60℃ および 70℃）

オプション操作を行う場合

- 3) RNase A（50 mg/ml）

遠心法を用いる場合 または 吸引法で溶出操作に遠心法を用いる場合

- 4) 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
- 5) 96-Well Plate 対応のバキュームマニホールド、15inHg に到達可能な真空ポンプ

サンプル量と収量

サンプル	推奨されるサンプル量		平均収量 (μg)
全血 (最大 200 μl)	200 μl		4～10
低収量組織 (Mouse) (最大 25 mg)	心臓	25 mg	5～15
	脳	25 mg	5～25
	腎臓	25 mg	20～30
	肺	25 mg	5～10
	腸	10 mg	5～10
高収量組織 (Mouse) (最大 10 mg)	脾臓	10 mg	5～30
動物細胞 (最大 5 × 10 ⁶ cells)	5 × 10 ⁶ cells		15～20

✚ **操作** ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

<遠心法>

ヒント:各ウェル 75~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を 70°C に予熱してください。(STEP 6 で使用)

STEP 1. サンプルの溶解

全血、バフィーコート、血清、血漿、体液

- ・ 20 μ l の Proteinase K を Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。
- ・ 200 μ l のサンプルを各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をし、60°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ STEP 2 へ進みます。

動物組織

- ・ 25 mg の動物組織 または 0.5 cm のマウス尾を Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。肝臓や脾臓など DNA 含有量の多い組織の場合は最大 10 mg までサンプル量を減らしてください。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K 溶液 (10 mg/ml) を各ウェルに加えます。
- ・ Adhesive Film で封をし、60°C、100 rpm で 1~2 時間 もしくは それ以上、サンプルが完全に溶解するまで振とう培養します。あらかじめ液体窒素で粉碎するか適切な機械でホモジナイズしておくことインキュベート時間を短縮できます。
- ・ <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をし、70°C、100 rpm で 20 分間、透明になるまで振とうします。
- ・ STEP 2 へ進みます。

動物培養細胞

- ・ サンプルを Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。
- ・ 1,000 \times g で 10 分間遠心分離し、細胞をペレット化させます。上清を捨てます。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K 溶液 (10 mg/ml) を各ウェルに加え、ピペッティングによりペレットを再懸濁します。
- ・ Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 10~20 分間振とうし、サンプルを溶解します。
- ・ <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をし、70°C、100 rpm で 20 分間、透明になるまで振とうします。
- ・ STEP 2 へ進みます。

STEP 2. 結合条件の調製

各ウェルに 200 μ l のエタノール (96-100%) を加えます。直ちに 5~10 回ピペティングで混和します。

STEP 3. 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 4. Filter Plate の洗浄

- 400 μ l の W1 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 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。
- Filter Plate の各ウェルに 650 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を加えます。
- 5,600~6,000 \times g で 15 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 5. 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 10 分間静置します。

STEP 6. DNA の溶出

- 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)
- 温めておいた 75~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。
重要ステップ! :効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。
重要ステップ! :75 μ l 以下の Elution Buffer または ddH₂O 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
- 組み合わせたプレートを 5,600~6,000 \times g で 5 分間遠心分離します。
- Adhesive Film (キットに付属) で封をし、精製後の DNA は-20°Cで保管します。

<吸引法>

ヒント:各ウェル 75~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を 70°C に予熱してください。(STEP 6 で使用)

STEP 1. サンプルの溶解

全血、バフィーコート、血清、血漿、体液

- 20 μ l の Proteinase K を Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。
- 200 μ l のサンプルを各ウェルに加え、ピペティングで混和します。
- 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペティングで混和します。
- Adhesive Film で封をし、60°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- STEP 2 へ進みます。

動物組織

- 25 mg の動物組織 または 0.5 cm のマウス尾を Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。肝臓や脾臓など DNA 含有量の多い組織の場合は最大 10 mg までサンプル量を減らしてください。
- 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K 溶液 (10 mg/ml) を各ウェルに加えます。
- Adhesive Film で封をし、60°C、100 rpm で 1~2 時間 もしくは それ以上、サンプルが完全に溶解するまで振とう培養します。あらかじめ液体窒素で粉碎するか適切な機械でホモジナイズしておくことインキュベート時間を短縮できます。
- <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペティングで混和します。
- Adhesive Film で封をし、70°C、100 rpm で 20 分間、透明になるまで振とうします。
- STEP 2 へ進みます。

動物培養細胞

- サンプルを Collection Plate (キットに付属) の各ウェルに移します。
- 1,000 \times g で 10 分間遠心分離し、細胞をペレット化させます。上清を捨てます。
- 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K 溶液 (10 mg/ml) を各ウェルに加え、ピペティングによりペレットを再懸濁します。
- Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 10~20 分間振とうし、サンプルを溶解します。
- <オプション>RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, お客様でご用意ください) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペティングで混和します。
- Adhesive Film で封をし、70°C、100 rpm で 20 分間、透明になるまで振とうします。
- STEP 2 へ進みます。

STEP 2. 結合条件の調製

各ウェルに 200 μ l のエタノール (96-100%) を加えます。直ちに 5~10 回ピペティングで混和します。

STEP 3. 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 10inHg で真空引きをします。
- ・ 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 の洗浄

- ・ Filter Plate の各ウェルに 400 μ l の W1 Buffer (エタノール添加) を加えます。
- ・ ウェルが空になるまで 10inHg で真空引きをします。
- ・ 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。
- ・ Filter Plate の各ウェルに 650 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を加えます。
- ・ ウェルが空になるまで 10inHg で真空引きをします。
- ・ 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 5. 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。
- ・ さらに 10 分間、真空引きをします。
- ・ ろ液と 2 枚目の Collection Plate を捨てます。

STEP 6. DNA の溶出

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 6 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)
- ・ 温めておいた 75~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。

重要ステップ! : 効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。

重要ステップ! : 75 μ l 以下の Elution Buffer または ddH₂O 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

- ・ バキュームマニホールドのバルブを閉じ、15inHg で真空引きをします。
- ・ バルブを開き、DNA を溶出します。
- ・ Adhesive Film (キットに付属) で封をし、精製後の DNA を-20°Cで保管します。