

FavorPrep™ Soil DNA Isolation Mini Kit

Cat: FASOI 000 (4 回分) / FASOI 001 (50 回分) / FASOI 001-1 (100 回分)

本製品は研究用です

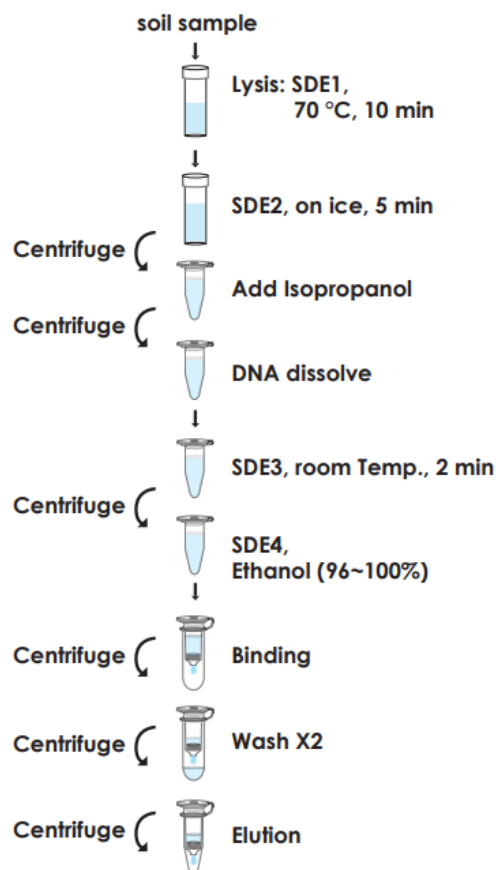
v 230206

📌 キットの内容

	FASOI 000 (4 preps_sample)	FASOI 001 (50 preps)	FASOI 001-1 (100 preps)
SDE1 Buffer	3.6 ml	40 ml	70 ml
SDE2 Buffer	1.2 ml	15 ml	25 ml
SDE3 Buffer	1.2 ml	15 ml	30 ml
SDE4 Buffer	1.5 ml	25 ml	40 ml
Wash Buffer	1.5 ml	20 ml	40 ml
(concentrated) *			
Elution Buffer	1.5 ml	25 ml	50 ml
SDE Mini Column	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Collection Tube	8 pcs	100 pcs	200 pcs
Elution Tube	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Bead Tube	4 pcs	50 pcs	100 pcs
*添加するエタノール量			
Wash Buffer	6 ml	80 ml	160 ml

📌 基本情報

構成	スピナラム (シリカメンブレン)
サンプル量	0.25~0.5 g
操作時間	<60 分
溶出量	50~200 μ l



📌 重要事項

1. Buffer には刺激物が含まれるものがあります。操作する際には手袋と白衣を着用してください。
2. SDE1 Buffer に沈殿が生じている場合は、60°Cで 10 分間温めてください。
3. Wash Buffer は開封時にエタノール (96~100%) を加えてください。
4. 操作前にドライバスもしくはウォーターバスを 70°Cに温めてください。グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、95°Cに温め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。
5. 遠心分離は、最大速度(~18,000 × g)で行ってください。
6. 操作前に Elution Buffer もしくは ddH₂O 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。

- 0.25–0.5g の土壌サンプルを Bead Tube へ加え、氷上に静置します。
* サンプルが液状の場合は、200 μ l 加えてください。
- 600 μ l の SDE1 Buffer を加え、5 分間ボルテックスします。その後 70°C で 10 分間インキュベートします。インキュベート中に 2 回サンプルをボルテックスしてください。
* 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。
- 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
- サンプルを冷まし、200 μ l の SDE2 Buffer を加えます。十分にボルテックスし、氷上で 5 分間インキュベートします。
- 最大速度 (~18,000 \times g) で 5 分間遠心分離します。
- 上清のみ 1.5 ml のチューブ (お客様でご用意ください) へ注意深く移し、体積を量ってください。
* このときペレットが混入しないようにしてください。
- 1.5ml チューブへ移したサンプルと同量のイソプロパノールを加え、十分にボルテックスします。10 分間遠心分離し、DNA をペレット化します。
例) サンプル量が 450 μ l の場合は、450 μ l のイソプロパノールを加えてください。
- 上清を捨て、1 分間ペーパータオルの上にチューブを逆さまに立て、残りの水分を取り除きます。
* このときペレットが混入しないようにしてください。
- 200 μ l の温めた Elution Buffer または ddH₂O を加え、ボルテックスで DNA を溶解させます。
- 100 μ l の SDE3 Buffer を加え、十分にボルテックスします。その後室温で 2 分間インキュベートしてください。
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、1 ml 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。
- 最大速度 (~18,000 \times g) で 2 分間遠心分離します。
- 上清を 1.5 ml のチューブ (お客様でご用意ください) へ移し、体積を量ってください。
* このときペレットが混入しないようにしてください。

13. <オプション> RNA-free genomic DNA を抽出する場合
1 μ l の RNase A (100 mg/ml, お客様でご用意ください) をサンプルに加えます。十分に混ぜ、室温で2分間インキュベートしてください。
14. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
15. サンプルと同量の SDE4 Buffer とエタノール (96-100%) を加え、パルスボルテックスで混和します。
例) サンプル量が 250 μ l の場合は、250 μ l の SDE4 Buffer と 250 μ l のエタノール (96-100%) を加えてください。
16. SDE Mini Column を Collection Tube へ取り付け、サンプル混合物を全て SDE Mini Column に移します。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 Mini Column を新しい Collection Tube へ取り付けます。
17. 750 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を SDE Mini Column へ加えます。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。
* 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。
18. ステップ 17 を繰り返します。
19. 最大速度 ($\sim 18,000 \times g$) で3分間遠心分離し、SDE Mini Column を乾燥させます。
重要ステップ! : この操作は酵素処理を阻害する物質を取り除くために重要です。
20. SDE Mini Column を Elution Tube に取り付けます。50-200 μ l の温めた Elution Buffer または ddH₂O を加え、室温で2分間静置します。
重要ステップ! : 効率よく溶出させるために Elution Buffer または ddH₂O をカラム膜中央へ加え、完全に吸着させてください。
21. 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

収量が少ない	
サンプルの保管方法が不適切	サンプルは-20℃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
細胞が溶解していない	
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
DNA がカラムに吸着していない	
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
Wash Buffer が正しく準備されていない	
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
DNA の溶出が不十分	
溶出に使用する ddH ₂ O の pH が酸性だった	ddH ₂ 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) をご使用ください
Elution Buffer もしくは ddH ₂ O がカラム膜に完全に吸着されていなかった	Elution Buffer または ddH ₂ O を添加した後、SDE Mini Column を 5 分間静置し、遠心分離を行ってください。
DNA の精製度が低い	
細胞が溶解していない	
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