

## FavorPrep™ Stool DNA Isolation Mini Kit

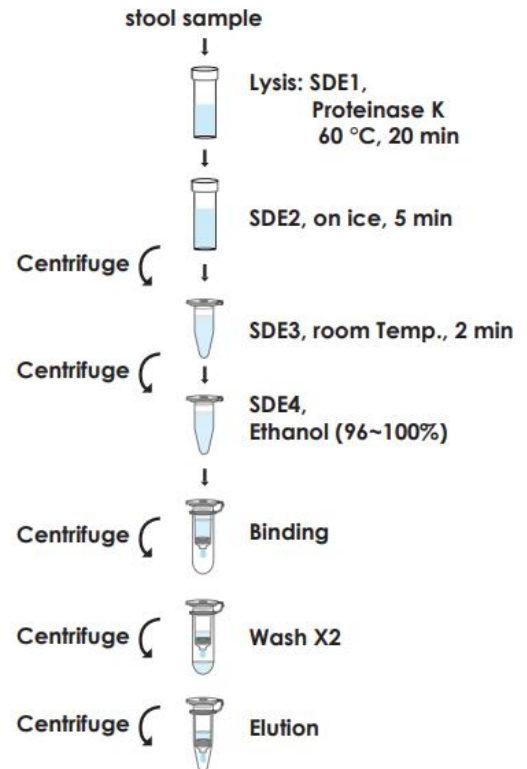
Cat: FASTI 000 (4 回分) / FASTI 001 (50 回分) / FASTI 001-1 (100 回分)

本製品は研究用です

v 230206

### 🌈 キットの内容

	FASTI 000 (4 preps_sample)	FASTI 001 (50 preps)	FASTI 001-1 (100 preps)
SDE1 Buffer	1.8 ml	20 ml	40 ml
SDE2 Buffer	1.2 ml	7 ml	14 ml
SDE3 Buffer	1.2 ml	15 ml	30 ml
SDE4 Buffer	3 ml	20 ml	40 ml
Wash Buffer	1.5 ml	20 ml	35 ml
(concentrated) *			
Elution Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
Proteinase K	1.1 mg	11 mg	11 mg × 2
(lyophilized) **			
SDE Mini Columns	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Collection Tubes	8 pcs	100 pcs	200 pcs
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Bead Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
*添加するエタノール量			
Wash Buffer	6 ml	80 ml	140 ml
**添加する ddH <sub>2</sub> O 量			
Proteinase K	0.11 ml	1.1 ml	1.1 ml × 2



### 🌈 基本情報

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

### 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 に沈殿がある場合は、60°Cで 10 分間温めてください。
3. ddH<sub>2</sub>O を Proteinase K へ加え、10 mg/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. 操作前にドライバスもしくはウォーターバスを 60°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。
6. 遠心分離は、最大速度 (~18,000 × g) で行ってください。
7. 操作前に 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. 最大 200 mg の便サンプルを Bead Tube へ加え、氷上に静置します。  
メモ: サンプルが乾燥している場合は、≤50 mg に減らしてください。  
サンプルが液状の場合は、200 μl を加えてください。
2. 300 μl の SDE1 Buffer と 20 μl の Proteinase K (10 mg/ml) を加え、5 分間ボルテックスします。サンプルを 60°Cで 20 分間インキュベートします。インキュベート中は、5 分毎に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、Proteinase K を加えた後 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、100 μl 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。
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) へ注意深く移し、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. 200 μl 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、1ml チップの先端を切ってピペッ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）へ注意深く移します。  
\* ペレットが混入しないようにしてください。
  
10. <オプション> RNA-free genomic DNA を抽出する場合  
1  $\mu$ 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。
  
11. 数秒間スピンドルし、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 Mini Column を Collection Tube へ取り付け、サンプル混合液を全て SDE Mini Column へ移します。最大速度 (~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。
  
14. 750  $\mu$ l の Wash Buffer (エタノール添加) を SDE Mini Column へ加えます。最大速度 (~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。  
\* Wash Buffer にエタノール (96-100%) が加えられていることを確認してください。
  
15. ステップ 14 を繰り返します。
  
16. 最大速度 (~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。
  
17. SDE Mini Column を Elution Tube に取り付けます。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 ddH<sub>2</sub>O 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 (~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
SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルトテックスでよく混和する
Proteinase K が機能していない	新しい Proteinase K を使用する
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 Column 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 Column 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 <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) をご使用ください
Elution Buffer もしくは ddH <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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 A260/A280 比が低い	
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
SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルト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 Proteinase K を使用する