

## FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction MicroElute Kit

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

本製品は研究用です

v 221019

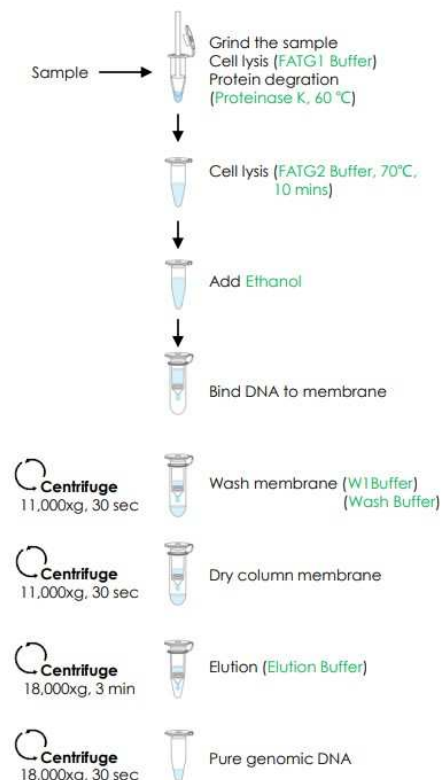
### 📦 キットの内容

	FATGM 000B (4 preps_sample)	FATGM 001B (50 preps)	FATGM 001-1B (100 preps)
FATG1 Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
FATG2 Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
W1 Buffer*	1.3 ml	22 ml	44 ml
Wash Buffer*	1.0 ml	10 ml	20 ml
Elution Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
Proteinase K**	1.0 mg	11 mg	11 mg × 2
TGM Columns***	4 pcs	10 pcs × 5	10 pcs × 10
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Micropestles	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Collection Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
<b>*添加する 96-100%エタノール量</b>			
W1 Buffer	0.5 ml	8 ml	16 ml
Wash Buffer	4 ml	40 ml	80 ml
<b>**添加する ddH<sub>2</sub>O 量 (Proteinase K (10 mg/ml) 溶液を調製)</b>			
Proteinase K	0.1 ml	1.1 ml	1.1 ml × 2

\*\*\*TGM Columns はフィルターの劣化防止のため受取後、4~8℃で保存してください。

### 📦 基本情報

構成	スピンカラム (シリカメンブレン)
サンプル量	動物組織: ≤10 mg
所要時間	<60 分
結合量	10 µg/column
方法	遠心法



### ✚ 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. 操作を始める前にドライバス又はウォーターバスをご準備ください。  
① 60°C (ステップ 4 にて使用) ② 70°C (ステップ 7 にて使用)
3. Elution Buffer は 70°C に温めてください。ステップ 16 で使用します。
4. FATG1 Buffer に沈殿が生じた場合は、37°C で湯煎して沈殿を溶かしてください。
5. Proteinase K は ddH<sub>2</sub>O を加えて 10 mg/ml に調製してください。調製後は 4-8°C で保管してください。
6. W1 Buffer と Wash Buffer は開封時にエタノール (96-100%) を加えてください。
7. 遠心分離の速度は、各ステップに従ってください。
8. **警告:** FATG2 Buffer および W1 Buffer にはグアニジニウム塩が含まれているため、漂白剤と組み合わせると反応性の高い化合物が生成される可能性があります。**漂白剤や酸性溶液を直接加えないでください。**

### ✚ 用意するもの

- 1) 滅菌済みのピペット、ピペットチップ、1.5 ml 遠心チューブ
- 2) エタノール (96-100%)
- 3) 18,000 × g に到達可能な遠心機、1.5 ml 遠心チューブ用ローター

### ✚ 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 10 mg の組織サンプルを 1.5 ml 遠心チューブ (お客様でご用意ください) に移します。Micropestle (キットに付属) ですり潰します。
2. 200 µl の FATG1 Buffer を加え、Micropestle もしくはピペットチップで十分に混和します。
3. 20 µl の Proteinase K (10 mg/ml) を加え、ボルテックスで十分に混和します。
4. 組織が完全に溶解するまで 60°C でインキュベートします。インキュベート中は 10~15 分毎にボルテックスします。
5. 4,500 × g で 1 分間遠心分離します。ペレットを取り除き、ライセートを新しい 1.5 ml 遠心チューブに移します。
6. <オプション> RNA-free genomic DNA を抽出する場合  
4 µl の RNase A (100 mg/ml, お客様でご用意ください) を加え、室温で 2 分間インキュベートします。
7. 200 µl の FATG2 Buffer を加えます。パルスボルテックスで十分に混和し、70°C で 10 分間インキュベートします。
8. 数秒間スピンドウンし、蓋の内側についた溶液を回収します。

9. 200  $\mu$ l のエタノール（96-100%）を加え、パルスボルテックスで十分に混和します。
10. 数秒間スピンドウンし、蓋の内側についた溶液を回収します。
11. TGM Column を Collection Tube へ取り付け、サンプル溶液（沈殿物を含む）を加えます。11,000  $\times$  g で 30 秒間遠心分離し、TGM Column を新しい Collection Tube に取り付けます。
12. 400  $\mu$ l の W1 Buffer を TGM Column へ加え、11,000  $\times$  g で 30 秒間遠心分離します。ろ液を捨て、TGM Column を Collection Tube に戻します。  
\* 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。
13. 750  $\mu$ l の Wash Buffer を TGM Column へ加え、11,000  $\times$  g で 30 秒間遠心分離します。ろ液を捨て、TGM Column を Collection Tube に戻します。  
\* 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。
14. TGM Column を乾燥させるため、さらに 18,000  $\times$  g で 3 分間遠心分離します。  
重要ステップ！：酵素処理を阻害する物質を取り除くため、このステップで残液を完全に除去する必要があります。
15. TGM Column を Elution Tube に取り付けます。
16.  $\geq 10$   $\mu$ l の予熱した Elution Buffer または ddH<sub>2</sub>O (pH 7.5-9.0) を TGM Column の膜中央に加え、3 分間静置します。  
重要ステップ！：効率よく溶出させるため、Elution Buffer を完全に吸着させてください。  
\* 10  $\mu$ l より少ない容量で溶出しないでください。収量の低下につながります。  
\* 10  $\mu$ l のサンプル混合物から得られる平均溶出量は 8  $\mu$ l です。
17. 18,000  $\times$  g で 1 分間遠心分離し、DNA を溶出します。
18. 精製した DNA を  $-20^{\circ}\text{C}$  で保管してください。

## トラブルシューティング

収量が少ない	
サンプル量が多すぎる	サンプル量を減らしてください。
Proteinase K の活性が十分でないため、細胞溶解が不十分	新鮮 または 適切に保存した Proteinase K 溶液を使用してください。 Proteinase K を直接 FATG2 Buffer に加えないでください。
FATG2 Buffer との混和が十分でないため、細胞溶解が不十分	パルスボルテックスにより、サンプルと FATG2 Buffer を直ちに十分に混和してください。
インキュベーション時間が短いため、細胞溶解が不十分	インキュベーション時間を延長し、溶け残りが無いことを確認してください。
DNA のカラム吸着が不十分	
ステップ 9 でエタノールを加えていない	サンプル混合物にエタノール (96-100%) が添加されていることを確認してください。
ステップ 9 で十分に混和されていない	エタノール (96-100%) とサンプル混合物が完全に混和されていることを確認してください。
Buffer の調製の不備	
W1, Wash Buffer へのエタノール添加量が誤っている	W1, Wash Buffer は開封時に正しい量のエタノール (96-100%) が添加されていることを確認してください。
DNA 溶出が不十分	
ddH <sub>2</sub> O の pH が酸性	ddH <sub>2</sub> O の pH が 7.5-9.0 であることを確認してください。 Elution Buffer (キットに付属) を使用してください。
Elution Buffer または ddH <sub>2</sub> O のカラム吸着が不十分	Elution Buffer または ddH <sub>2</sub> O を添加後、3 分間静置してから遠心分離してください。
カラムが詰まっている	
ライセートに残渣が含まれている	遠心分離で残渣を除去してください。
サンプルの粘性が高い	サンプル量を減らしてください。
Proteinase K の活性が十分でない	Proteinase K を直接 FATG2 Buffer に加えないでください。
DNA の精製度が低い	
Proteinase K の活性が十分でない	新鮮 または 適切に保存した Proteinase K 溶液を使用してください。 Proteinase K を直接 FATG2 Buffer に加えないでください。
FATG2 Buffer との混和が十分でないため、細胞溶解が不十分	パルスボルテックスにより、サンプルと FATG2 Buffer を直ちに十分に混和してください。
インキュベーション時間が短いため、細胞溶解が不十分	インキュベーション時間を延長し、溶け残りが無いことを確認してください。
パラフィン包埋組織から抽出したゲノム DNA の劣化 もしくは サンプルが古い	新鮮 または 保存状態の良いサンプルを使用してください。