

FavorPrep™ 96-Well Viral DNA/RNA Kit

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

本製品は研究用です

v 230223

📌 キットの内容

	FAVRE 96001 (1 prep)	FAVRE 96002 (2 preps)	FAVRE 96004 (4 preps)
VNE Buffer	60 ml	120 ml	120 ml × 2
AD Buffer*	5 ml	10 ml	10 ml × 2
Wash Buffer 1 (concentrate)*	55 ml	110 ml	110 ml × 2
Wash Buffer 2 (concentrate)*	25 ml	50 ml	50 ml × 2
RNase-free Water	15 ml	30 ml	30 ml × 2
Filter Plate (96-Well DNA/RNA 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			
AD Buffer	40 ml	80 ml	80 ml × 2
Wash Buffer 1 (concentrated)	10 ml	20 ml	20 ml × 2
Wash Buffer 2 (concentrated)	100 ml	200 ml	200 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	血清、血漿、体液、細胞培養上清: 200 μl
所要時間	< 60 分 / 96 preparations
結合量	最大 60 μg /well
溶出量	50-75 μl
方法	遠心法 もしくは 吸引法

• **STEP 1. Sample preparation and lysis**



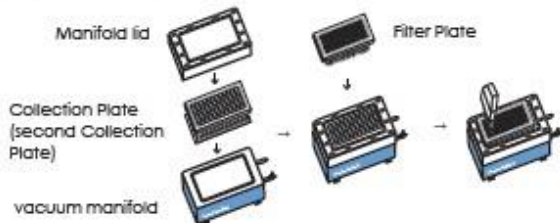
• **STEP 2. Adjust binding condition:**



• **STEP 3. Bind DNA/RNA to Filter Plate:**

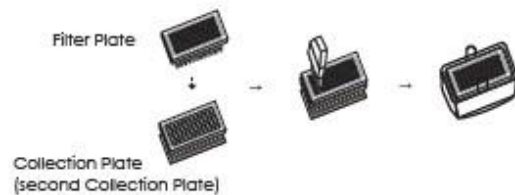
Vacuum processing

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



Centrifuge processing

- Combine the plates.
- Transfer the sample mixture to Filter plate.
- Centrifuge at 5,600~6,000 x g for 2 min.



• **STEP 4. Wash the Filter Plate with Wash Buffer 1**

- Add Wash Buffer 1. Apply vacuum at -12 inches Hg.



- Add Wash Buffer 1. Centrifuge at 5,600~6,000 x g for 2 min.



• **STEP 5 & 6. Wash the Filter Plate with Wash Buffer 2**

- STEP 5:
Add Wash Buffer 2.
Apply vacuum at -12 inches Hg.
- STEP 6:
Add Wash Buffer 2.
Apply vacuum at -12 inches Hg for 10 min.



- STEP 5:
Add Wash Buffer 2. Centrifuge at 5,600~6,000 x g for 2 min
- STEP 6:
Add Wash Buffer 2. Centrifuge at 5,600~6,000 x g for 15 min



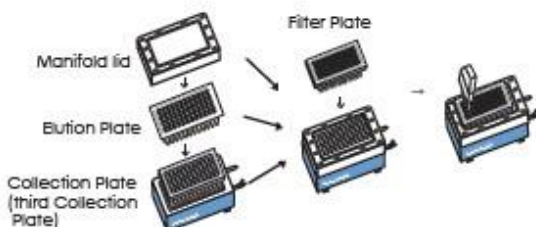
• **STEP 7. Dry the membranes of the Filter Plate:**

- 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.

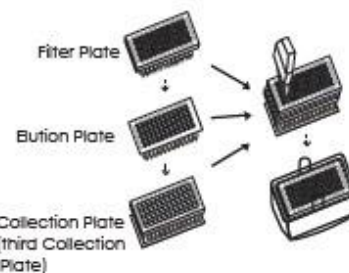
- Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 10 min.

• **STEP 8. DNA/RNA Elution:**

- Add RNase free water 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 viral DNA/RNA.
Alternative: If the consistent volume of elutes are recommended, use centrifuge protocol to process this elution step. (Page 4, STEP 8).



- Add RNase-free Water to the Filter Plate. Stand for 3 min.
- Centrifuge to elute viral DNA/RNA.



✚ 重要事項

1. 操作に関連するものは、RNase-freeであることを確認してください。
2. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
3. 凍結血漿・血清の解凍は、1回までとし、複数回行わないでください。
4. 血漿・血清に沈殿が見られる場合、6,000 × gで3分間遠心分離します。その後、上清を新しいバイアルに移し、直ちに処理してください。
5. AD Buffer, Wash Buffer 1, 2 開封時にエタノール（96-100%）を加えてください。
6. Buffer を安全に取り扱うために、操作前に安全情報（製品付属の英語版プロトコール）をお読みください。
7. 遠心分離の速度が各ステップの指示に従っていることを確認してください。
8. STEP 3~6 を吸引法で行う場合、プレートの先端がバキュームマニホールドに適合し、-12inHgに到達可能なことを確認してください。

✚ 用意するもの

- 1) 滅菌済みのピペット、ピペットチップ
- 2) 96-100%エタノール（ヌクレアーゼフリー）

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

- 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. サンプルの準備と溶解

- ・ 200 μl のサンプルを Collection Plate（キットに付属）の各ウェルに移します。調製したサンプルが 200 μl に満たない場合は、PBS（お客様でご用意ください）を用いてサンプル量を 200 μl に調整してください。
- ・ 400 μl の VNE Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングにより完全に混和します。
- ・ 室温で 10 分間インキュベートします。

STEP 2. 結合条件の調整

- ・ 300 μl の AD Buffer（エタノール添加）を各ウェルに加え、ピペッティングにより完全に混和します。

STEP 3. DNA/RNA 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。

- 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. Wash Buffer 1 による Filter Plate の洗浄

- Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 1 (エタノール添加) を加えます。
- ウェルが空になるまで-12inHg 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. Wash Buffer 2 による Filter Plate の洗浄

- Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 2 (エタノール添加) を加えます。
- ウェルが空になるまで-12inHg 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 6. Filter Plate の再洗浄

- Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 2 (エタノール添加) を加えます。
- 12inHg で 10 分間真空引きをします。
- ろ液を捨て、Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。

STEP 7. 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 8. DNA/RNA の溶出

代替方法: 溶出ステップを遠心分離で行う場合、<遠心法>の STEP 8 に進みます。

- 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 μ l の RNase-free Water を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。
メモ: 効果的な溶出のため、RNase-free Water が完全に吸着したことを確認してください。
メモ: 50 μ l 以下の RNase-free Water 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、-12inHg で真空引きをします。
- バルブを開き、DNA/RNA を溶出します。
- Adhesive Film (キットに付属) で封をし、精製後の DNA/RNA を-70°Cで保管します。

<遠心法>

STEP 1. サンプルの準備と溶解

- ・ 200 μ 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。調製したサンプルが 200 μ l に満たない場合は、PBS (お客様でご用意ください) を用いてサンプル量を 200 μ l に調整してください。
- ・ 400 μ l の VNE Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングにより完全に混和します。
- ・ 室温で 10 分間インキュベートします。

STEP 2. 結合条件の調整

- ・ 300 μ l の AD Buffer (エタノール添加) を各ウェルに加え、ピペッティングにより完全に混和します。

STEP 3. DNA/RNA 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 に移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。
- ・ 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。

STEP 4. Wash Buffer 1 による Filter Plate の洗浄

- ・ Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 1 (エタノール添加) を加えます。
- ・ 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。

STEP 5. Wash Buffer 2 による Filter Plate の洗浄

- ・ Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 2 (エタノール添加) を加えます。
- ・ 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。

STEP 6. Filter Plate の再洗浄

- ・ Filter Plate の各ウェルに 500 μ l の Wash Buffer 2 (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。
- ・ ろ液と 2 枚目の Collection Plate を捨てます。

STEP 7. 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 8. DNA/RNA の溶出

- ・ Elution Plate (キットに付属) を新しい Collection Plate (キットに付属、4 枚目) に取り付けます。(上: Filter Plate 中: Elution Plate 下: Collection Plate)

- 50～75 μ l の RNase-free Water を Filter Plate の膜中央に加え、3 分間静置します。
メモ: 効果的な溶出のため、RNase-free Water が完全に吸着したことを確認してください。
メモ: 50 μ l 以下の RNase-free Water 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、DNA/RNA を溶出します。
- Adhesive Film (キットに付属) で封をし、精製後の DNA/RNA を -70°C で保管します。