

FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Maxi Kit

Cat: FAPGK 000-Maxi (2 回分) / FAPGK 002 (10 回分)

本製品は研究用です

v 202309

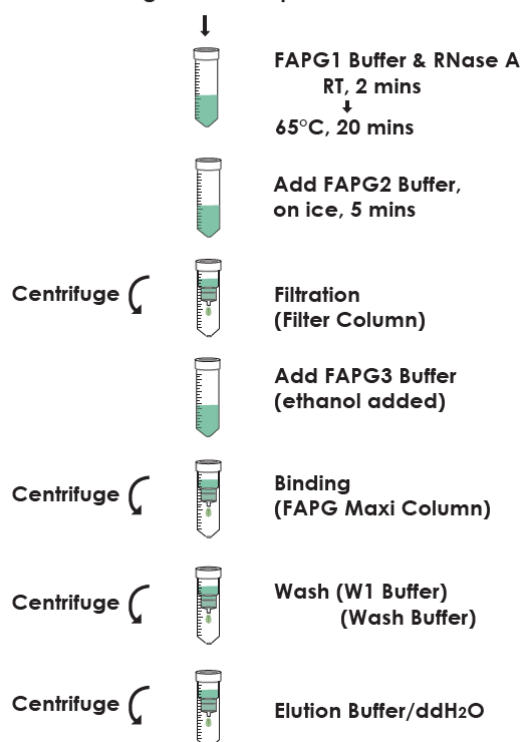
キットの内容

	FAPGK 000-Maxi (2 preps)	FAPGK 002 (10 preps)
FAPG1 Buffer	10 ml	45 ml
FAPG2 Buffer	3.0 ml	13 ml
FAPG3 Buffer* (concentrate)	7.5 ml	30 ml
W1 Buffer* (concentrate)	4.0 ml	26 ml
Wash Buffer* (concentrate)	5.0 ml	25 ml
Elution Buffer	6.0 ml	30 ml
RNase A Solution	50 μ l	170 μ l
Filter Column	2 pcs	10 pcs
FAPG Maxi Column	2 pcs	10 pcs
*添加するエタノール量		
FAPG3 Buffer	15 ml	60 ml
W1 Buffer	5.0 ml	34 ml
Wash Buffer	20 ml	100 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	最大 1 g
操作時間	< 60 分
収量	50~300 μ g

Grind plant tissue under liquid nitrogen to a fine powder



✚ 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. FAPG1 Buffer に沈殿物がある場合は 60°C で 5 分間温めてください。
3. 操作前にドライバスもしくはウォーターバスを 65°C に温めてください。
4. FAPG3 Buffer、W1 Buffer、Wash Buffer は開封時に 96~100% エタノールを添加してください。
5. 50ml チューブの遠心分離は適切なスイングバケットを使用し、4,000~4,500 × g の速度で行ってください。
6. RNase A は受け取り後 -20°C で保管してください。

✚ 操作

ヒント: 冷却ボックスと 65°C のドライバスまたはウォーターバスを用意してください。(ステップ 2,3 にて使用)

Elution Buffer または ddH₂O を 65°C に予熱してください。(ステップ 11 にて使用)

1. 1 g の新鮮または冷凍植物組織、または 50 mg (最大 100 mg) の乾燥植物組織を切りとる。液体窒素で粉碎し、15ml の新しいチューブ(非付属品)へ移します。
 - * サンプルによっては液体窒素を使用せずに粉碎することも可能です。
 - * サンプルが溶けない様に、すぐにステップ 2 の操作を行ってください。
2. 4 ml の FAPG1 Buffer と 10 μl の RNase A Solution を粉碎したサンプルに加え、ボルテックスで混和します。室温で 2 分間、65°C で 20 分間インキュベートし、インキュベート中 2~3 回ほど転倒混和させます。
3. 1ml の FAPG 2 Buffer を加えます。ボルテックスで混和させ氷上で 5 分間インキュベートします。
4. Filter Column を 50 ml チューブ(非付属品)へ取り付け、サンプル溶液を Filter Column へアプライします。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 5 分間遠心分離します。
5. 50 ml チューブ中のサンプル溶液を新しい 50 ml チューブ(非付属品)へ移します。FAPG3 Buffer をサンプル量に応じて加えるため、サンプル量を調整してください。

メモ: サンプル溶液を新しいチューブに移す際に、サンプル片が混ざらないように注意してください。
6. サンプル溶液量に対し、1.5 倍量の FAPG3 Buffer(エタノール添加)を加え、10 秒間ボルテックスで混和してください。
 - * FAPG3 Buffer が開封時に 96~100% エタノールが加えられていることを確認してください。例: 5 ml のサンプル溶液に対して 7.5 ml の FAPG3 Buffer を加えてください。
7. FAPG Maxi Column を 50 ml チューブ(非付属品)へ取り付け、ステップ 6 のサンプル溶液(沈殿物を含む)を FAPG Maxi Column へアプライします。スイングバケットの遠心機(4,000~4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50 ml チューブへ戻します。

8. FAPG Maxi Column へ 4 ml の W1 Buffer(エタノール添加)を加えます。スイングバケットの遠心機(4,000～4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50ml チューブへ戻します。
* W1 Buffer が開封時に 96～100%エタノールが加えられていることを確認してください。
9. FAPG Maxi Column へ 6 ml の Wash Buffer(エタノール添加)を加えます。スイングバケットの遠心機(4,000～4,500 × g)で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPG Maxi Column を 50 ml チューブへ戻します。
* Wash Buffer が開封時に 96～100%エタノールが加えられていることを確認してください。
10. さらに 10 分間スイングバケットの遠心機(4,000～4,500 × g)で遠心分離し、FAPG Maxi Column を乾燥させます。
* この操作は酵素処理を阻害する物質を取り除くための重要なステップです。
11. FAPG Maxi Column を新しい 50 ml チューブ(非付属品)へ取り付けてください。予熱しておいた 1 ml の Elution Buffer もしくは ddH₂O を FAPG Maxi Column の中央へ加えます。5 分間静置し、Elution Buffer もしくは ddH₂O を FAPG Maxi Column へ吸着させます。
重要ステップ! : 効率よく溶出させるため、Elution Buffer もしくは ddH₂O をカラム膜中央へ加え、完全に吸着させてください。
12. スイングバケット式遠心機(4,000～4,500 × g)で 3 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	
FAPG3 Buffer もしくは Wash Buffer が正しく準備されていない	
FAPG3 Buffer にエタノールが加えられていない	新しいサンプルで抽出し直してください。
W1 Buffer と Wash Buffer にエタノールが加えられていない	W1 Buffer と 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、新しいサンプルで抽出し直してください。
添加したエタノールの濃度もしくは分量に誤りがあった	開封時に加えるエタノールの分量とエタノール濃度 (96～100%) が正しいか確認し、新しいサンプルで抽出し直してください。
DNA 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 がカラムのメンブレンに完全に吸着されていなかった	Elution Buffer もしくは ddH ₂ O を加えた後、遠心分離をする前の FAPG Column を 5 分間静置してください。
カラムがつまる	
サンプルに粘性がある	サンプルの量を減らしてください。

DNA が変性している	
サンプルが古い	DNA 抽出に使用するサンプルは新鮮なものか保存状態が良いものをご使用ください。
電気泳動 Buffer が DNase でコンタミしていた	新しい電気泳動 Buffer をご使用ください。