

FavorPrep™ 96-Well Plant Genomic DNA Kit

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

本製品は研究用です

v 230223rev

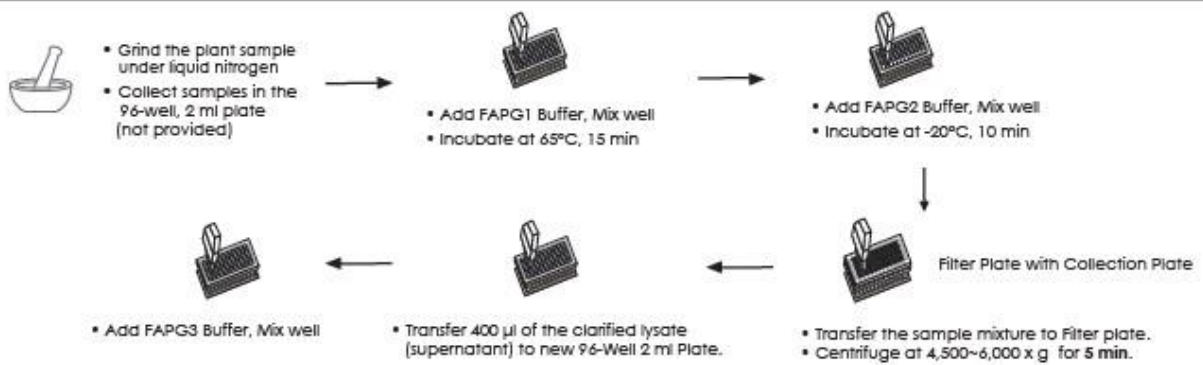
📦 キットの内容

	FAPGE 96001 (1 prep)	FAPGE 96002 (2 preps)	FAPGE 96004 (4 preps)
FAPG1 Buffer	60 ml	120 ml	120 ml × 2
FAPG2 Buffer	20 ml	40 ml	80 ml
FAPG3 Buffer (concentrated)*	30 ml	60 ml	60 ml × 2
Wash Buffer (concentrated)*	20 ml	40 ml	40 ml × 2
Elution Buffer	30 ml	60 ml	120 ml
RNase A (lyophilized)**	25 mg	50 mg	50 mg × 2
DNA Binding Plate (96-Well)	1 plate	2 plates	4 plates
Filter Plate (96-Well)	1 plate	2 plates	4 plates
Elution Plate (96-Well PCR Plate)	1 plate	2 plates	4 plates
Adhesive Film	4 pcs	8 pcs	16 pcs
*添加する 96-100%エタノール量			
FAPG3 Buffer (concentrated)	60 ml	120 ml	120 ml × 2
Wash Buffer (concentrated)	80 ml	160 ml	160 ml × 2
**添加する ddH₂O 量			
RNase A (lyophilized)	0.5 ml	1 ml	1 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	新鮮 または 凍結植物組織: 最大 50 mg 乾燥植物組織: 最大 15 mg 植物細胞: 最大 5×10^6 cells
所要時間	約 60 分
結合量	最大 40 μ g total DNA
収量	5~35 μ g
溶出量	100~200 μ l
方法	遠心法 もしくは 吸引法

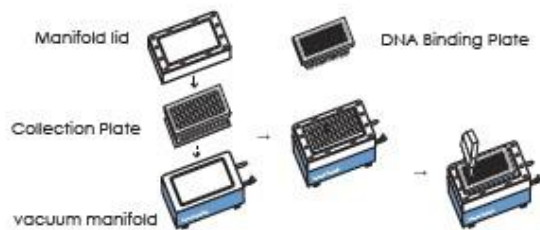
• **STEP A. Sample preparation**



• **STEP B. Bind DNA to DNA Binding Plate:**

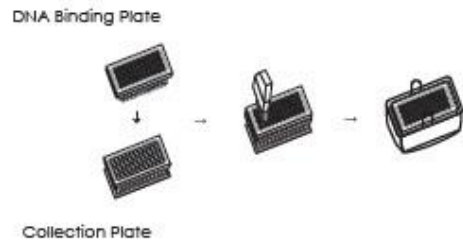
Vacuum/Centrifuge processing

- Transfer the sample mixture to DNA Binding Plate.
- Apply -12 inches Hg vacuum until the wells have emptied.



Centrifuge processing

- Transfer the sample mixture to DNA Binding Plate.
- Centrifuge at 4,500~6,000 x g for 5 min.



• **STEP C. Wash the DNA Binding Plate with Wash Buffer**

- Add Wash Buffer. Apply vacuum at -12 inches for 5 min



- Add Wash Buffer. Centrifuge at 4,500~6,000 x g for 5 min



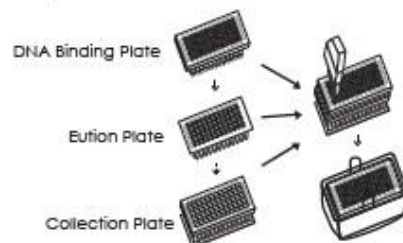
• **STEP D. Dry the membranes of the DNA Binding Plate:**

- Centrifuge at 4,500~6,000 x g for an additional 10 minutes

- Combine the DNA Binding Plate with a 96-Well 2 ml Plate
- Centrifuge at 4,500~6,000 x g for 10 minutes

• **STEP E. DNA Elution:**

- Add Elution Buffer to the DNA Binding Plate. Stand for 5 min.
- Centrifuge to elute DNA.



✚ 重要事項

1. RNase A は手元に届き次第、-20℃で保管してください。また、ddH₂O 添加後は 4℃で保管してください。
※RNase A Solution は調製不要です。対応する取扱説明書をご確認ください。
2. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
3. 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ル）をお読みください。
4. 本書に記載されている最大サイズを超えるサンプルは使用しないでください。
5. 操作前に、FAPG1 Buffer (400 μl の FAPG1 Buffer に 4 μl の RNase A (ddH₂O 添加) を含む) を十分な量調製してください。
6. 複数の組織サンプルの粉碎には適切なホモジナイザーの使用を推奨します。
7. FAPG3 Buffer および Wash Buffer は開封時にエタノール (96~100%) を添加してください。
8. 操作前に、ドライバス または ウォーターバスを 65℃に設定してください。

✚ 用意するもの

- 1) 96-Well 2ml Plate (2.0ml 96-Well deep collection plate)
- 2) 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
- 3) ウォーターバス または インキュベーター (65℃)
- 4) 液体窒素 または 破砕機
- 5) 無水エタノール (96-100%)
- 6) 冷凍庫 (-20℃)

吸引法を用いる場合

- 7) 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 A サンプルの調製

1. サンプルを液体窒素下で粉末化し、96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に移します。
2. 400 μl の FAPG1 Buffer (RNase A 添加) を各ウェルに加え、Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、プレートを軽く振って混和します。
3. 65℃で 15 分間インキュベートします。この間、5 分毎にプレートを軽く振とうしてください。
4. 4,500~6,000 × g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。
5. 130 μl の FAPG2 Buffer を各ウェルに加え、新しい Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、20 秒間激しくボルテックスして十分に混和します。
6. プレートを-20℃の冷凍庫に入れ、10 分間静置します。
7. 4,500~6,000 × g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。
8. Filter Plate (キットに付属) を新しい 96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に取り付け、ライセート全量を Filter Plate へ移します。

9. 組み合わせたプレートを 4,500~6,000 × g で 5 分間遠心分離します。
10. 400 μl の上清を新しい 96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に移します。
メモ: ペレットを粉砕しないでください。
11. 600 μl の FAPG3 Buffer (エタノール添加) を加え、新しい Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、20 秒間激しくボルテックスして十分に混和します。
12. 4,500~6,000 × g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。

STEP B DNA の結合

13. DNA Binding Plate (キットに付属) をバキュームマニホールドに取り付け、ライセート全量を移します。
14. ウェルが空になるまで -12inHg で 5 分間真空引きをします。

STEP C DNA Binding Plate の洗浄

15. 300 μl の Wash Buffer (エタノール添加) を各ウェルに加えます。ウェルが空になるまで、-12inHg で 5 分間真空引きをします。
16. ステップ 15 を繰り返し、再度洗浄します。

STEP D DNA Binding Plate の乾燥

17. DNA Binding Plate を 96-Well 2ml Plate に取り付けます。組み合わせたプレートを 4,500~6,000 × g で 10 分間遠心分離 (もしくは 65°C オープンで 10 分間インキュベート) して残留エタノールを除去し、ろ液を捨てます。

STEP E 溶出

18. DNA Binding Plate を Elution Plate (キットに付属) に取り付けます。100~200 μl の Elution Buffer または ddH₂O を各ウェルに加え、完全に吸着するまで 5 分間静置します。
メモ: 溶出液は Elution Buffer または ddH₂O の添加量よりも平均で約 25 μl 少なくなります。
例) 50 μl の Elution Buffer に対して ~25 μl の溶出液が回収できます。
メモ: 50 μl 以下の Elution Buffer または ddH₂O 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。
メモ: 効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。
19. 組み合わせたプレートを 96-Well 2ml Plate に重ねます。(上: DNA Binding Plate 中: Elution Plate 下: 96-Well 2ml Plate)
20. 3 枚組み合わせたプレートを 4,500~6,000 × g で 5 分間遠心分離し、Elution Plate に精製した DNA を溶出させます。
21. 溶出した DNA を -20°C で保存します。

<遠心法>

STEP A サンプルの調製

1. サンプルを液体窒素下で粉末化し、96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に移します。
2. 400 μ l の FAPG1 Buffer (RNase A 添加) を各ウェルに加え、Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、プレートを軽く振って混和します。
3. 65°Cで 15 分間インキュベートします。この間、5 分毎にプレートを軽く振とうしてください。
4. 4,500~6,000 \times g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。
5. 130 μ l の FAPG2 Buffer を各ウェルに加え、新しい Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、20 秒間激しくボルテックスして十分に混和します。
6. プレートを-20°Cの冷凍庫に入れ、10 分間静置します。
7. 4,500~6,000 \times g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。
8. Filter Plate (キットに付属) を新しい 96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に取り付け、ライセート全量を移します。
9. 組み合わせたプレートを 4,500~6,000 \times g で 5 分間遠心分離します。
10. 400 μ l の上清を新しい 96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に移します。
メモ:ペレットを粉砕しないでください。
11. 600 μ l の FAPG3 Buffer (エタノール添加) を加え、新しい Adhesive Film (キットに付属) で封をします。その後、20 秒間激しくボルテックスして十分に混和します。
12. 4,500~6,000 \times g で 1 分間遠心分離して液滴を除去した後、Adhesive Film を捨てます。

STEP B DNA の結合

13. DNA Binding Plate (キットに付属) を新しい 96-Well 2ml Plate (お客様でご用意ください) に取り付け、ライセート全量を移します。
14. 組み合わせたプレートを 4,500~6,000 \times g で 5 分間遠心分離します。ろ液を捨て、DNA Binding Plate を 96-Well 2ml Plate に戻します。

STEP C DNA Binding Plate の洗浄

15. 300 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を各ウェルに加えます。組み合わせたプレートを 4,500~6,000 \times g で 5 分間遠心分離します。ろ液を捨て、DNA Binding Plate を 96-Well 2ml Plate に戻します。
16. ステップ 15 を繰り返し、再度洗浄します。

STEP D DNA Binding Plate の乾燥

17. DNA Binding Plate を 96-Well 2ml Plate に取り付けます。組み合わせたプレートを 4,500~6,000 \times g で 10 分間遠心分離 (もしくは 65°Cオーブンで 10 分間インキュベート) して残留エタノールを除去し、ろ液を捨てます。

STEP E 溶出

18. DNA Binding Plate を Elution Plate (キットに付属) に取り付けます。100~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を DNA Binding Plate の各ウェルに加え、完全に吸着するまで 5 分間静置します。
メモ: 溶出液は Elution Buffer または ddH₂O の添加量よりも平均で約 25 μ l 少なくなります。
例) 50 μ l の Elution Buffer に対して ~25 μ l の溶出液が回収できます。
メモ: 50 μ l 以下の Elution Buffer または ddH₂O で溶出ししないでください。収量が減少する恐れがあります。
メモ: 効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。
19. 組み合わせたプレートを 96-Well 2ml Plate に重ねます。(上: DNA Binding Plate 中: Elution Plate 下: 96-Well 2ml Plate)
20. 3 枚組み合わせたプレートを 4,500~6,000 \times g で 5 分間遠心分離し、Elution Plate に精製した DNA を溶出させます。
21. 溶出した DNA を -20°C で保存します。