

FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Micro Kit

Cat. No. : FATG1010 (4 回分) / FATG1013 (50 回分) / FATG1014 (100 回分)

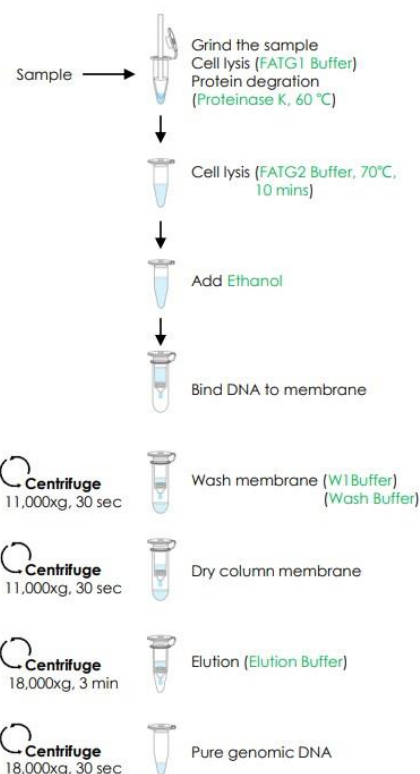
本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FATG1010 (FATGM 000B) (4 preps)	FATG1013 (FATGM 001B) (50 preps)	FATG1014 (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 (Concentrate)*	1.3 ml	22 ml	44 ml
Wash Buffer (Concentrate)*	1.0 ml	10 ml	20 ml
Elution Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
Proteinase K (Liquid)	100 μ l	1050 μ l	1050 μ l $\times$ 2
TGM Columns	4 pcs	10 pcs $\times$ 5	10 pcs $\times$ 10
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Micropestles	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Collection Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
*添加する 96~100%エタノール量			
W1 Buffer	0.5 ml	8 ml	16 ml
Wash Buffer	4 ml	40 ml	80 ml

● 基本情報

構成	スピнкаラム (シリカメンブレン)
サンプル量	動物組織: 最大 10 mg
所要時間	<60 分
結合量	10 μ g/column
方法	遠心法
溶出量	10 μ l



● 重要事項

1. 本キットの構成品は TGM Column を除き、室温 (15~25℃) で保管してください。
2. TGM Column は 4~8℃ で保管してください。
3. 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。
4. 操作を始める前にドライバスまたはウォーターバスをご準備ください。
① 60℃ (ステップ 4 で使用) ② 70℃ (ステップ 7 で使用)
5. Elution Buffer は 70℃ に温めてください。(ステップ 16 で使用)
6. FATG1 Buffer に沈殿が生じた場合は、37℃ で湯せんして沈殿を溶かしてください。
7. 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。
8. 遠心分離の速度は、各ステップに従ってください。
9. **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) 96~100% エタノール (W1 Buffer と Wash Buffer の調製用)
- 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. 最大 10 mg の組織サンプルを遠心チューブ (非付属品) に移します。Micropestle (付属品) を使い、サンプルをすり潰します。
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 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℃ 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, 非付属品) 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℃ 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 μl 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 に取り付け、混合液 (沈殿物を含む) を慎重に加えます。11,000 × 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 μl の W1 Buffer を加え、11,000 × 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%)が加えられていることを確認してください。

13. 750 μ l の Wash Buffer を加え、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%)が加えられていることを確認してください。

14. ~18,000 $\times$ g で 3 分間遠心分離し、TGM Column を乾燥させます。

重要！ 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. ≥ 10 μ l の予熱した Elution Buffer または ddH₂O (pH 7.5~9.0) を TGM Column のメンブレンの中央に加え、3 分間静置します。

重要！ 効率よく溶出させるため、Elution Buffer または ddH₂O をメンブレンの中央に滴下し、完全に吸着させてください。

メモ) 10 μ l 未満の Elution Buffer または ddH₂O で溶出しないでください。収量の低下につながります。

10 μ l の混合液から得られる平均溶出量は 8 μ 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. トータル DNA を-20℃で保管します。

● 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	反応温度と時間が正しいか確認してください。 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、溶け残りがいな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	混合液にエタノール (96~100%) が加えられていることを確認してください。
ステップ 9 で十分に混和されていない	エタノール (96~100%) と混合液が完全に混和していることを確認してください。
Buffer の調製の不備	
W1 Buffer と Wash Buffer へのエタノール添加量が間違っている	W1 Buffer と Wash Buffer は開封時に正しい量のエタノール (96~100%) が加えられていることを確認してください。
DNA 溶出が不十分	
ddH ₂ O の pH が酸性	ddH ₂ O の pH が 7.5-9.0 であることを確認してください。
	Elution Buffer (付属品) を使用してください。
Elution Buffer または ddH ₂ O のカラム吸着が不十分	Elution Buffer または ddH ₂ 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	反応温度と時間が正しいか確認してください。 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、溶け残りがいな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 サンプルの放置時間が長すぎる	必ず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。