

FavorPrep™ Plasmid Extraction Mini Kit

Cat. No. : FSPD1020 (4 回分) / FSPD1024 (100 回分) / FSPD1026 (300 回分)

本製品は研究用です v 202505

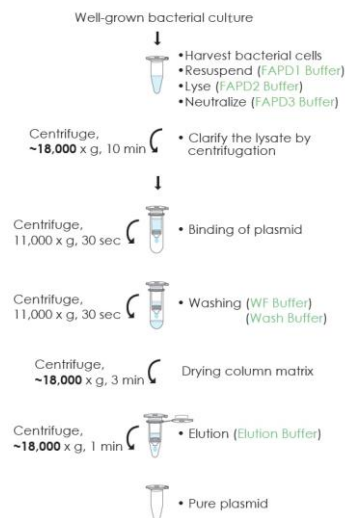
※本取扱説明書は RNase A 付属量の変更後の製品に対応しています。(2025 年 5 月以降順次切り替え)
必ず、お手元にある製品の RNase A Solution の容量をご確認ください。
下表と異なる場合は型番とロット番号をご記載の上、メール (technical@chiyoda-s.jp) にてご請求ください。

● キットの内容

	FSPD1020 (FAPDE 000-Mini) (4 preps)	FSPD1024 (FAPDE 001) (100 preps)	FSPD1026 (FAPDE 001-1) (300 preps)
FAPD1 Buffer**	1.5 ml	30 ml	90 ml
FAPD2 Buffer	1.5 ml	30 ml	90 ml
FAPD3 Buffer	1.5 ml	40 ml	120 ml
WF Buffer (Concentrate)*	1.3 ml	35 ml	98 ml
Wash Buffer (Concentrate)*	1 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	0.5 ml	15 ml	35 ml
FAPD Columns	4 pcs	100 pcs	300 pcs
Collection Tubes	4 pcs	100 pcs	300 pcs
RNase A Solution	10 μ l	130 μ l	420 μ l
*添加する 96~100%エタノール量			
WF Buffer	0.5 ml	13 ml	36 ml
Wash Buffer	4 ml	80 ml	200 ml
**添加する RNase A Solution 量			
FAPD1 Buffer	6 μ l	120 μ l	360 μ l

● 基本情報

構成	ミニスピナラム(シリカメンブレン)
サンプル量	1~5 ml
プラスミドサイズ	<15 Kb
所要時間	<25 分
収量	25~40 μ g
結合量	60 μ g/column
方法	遠心法 もしくは 吸引法



● 重要事項

1. RNase A Solution は受け取り次第、 -20°C で保管してください。
2. FAPD1 Buffer に RNase A Solution を加え、十分に混和し、 4°C で保管してください。
3. FAPD2 Buffer に沈殿物が見られる場合、 37°C の湯せんで温めて沈殿物を溶かしてください。
4. WF Buffer と Wash Buffer は開封時に 96~100%エタノール(非付属品)を加えてください。
5. 遠心分離は $11,000\sim 18,000\times g$ で行ってください。

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 1~5 ml の細菌培養液を遠心チューブ(非付属品)に移します。
2. $11,000\times g$ で 1 分間遠心分離し、上清を完全に捨てます。
3. 250 μl の FAPD1 Buffer (RNase A 添加) を加え、ピペティングでペレットを再懸濁します。
 - ・ FAPD1 Buffer に RNase A が添加されていることを確認してください。
 - ・ 再懸濁ではペレットを完全に溶解させてください。
4. 250 μl の FAPD2 Buffer を加え、5~10 回転倒混和します。室温で 2~5 分間静置し、細胞を溶解します。
 - ・ ゲノム DNA が切断されるため、ボルテックスしないでください。必要な場合は、混合液が透明になるまで転倒混和してください。
 - ・ 5 分以上インキュベートしないでください。
5. 350 μl の FAPD3 Buffer を加えます。直ちに 5~10 回転倒混和し、ライセートを中和します。
 - ・ 沈殿が局在化するのを防ぐため、FAPD3 Buffer の添加後は直ちに混和してください。
6. 最大速度($\sim 18,000\times g$)で 10 分間遠心分離します。この間に FAPD Column を Collection Tube に取り付けます。
7. 上清を慎重に FAPD Column に加え、 $11,000\times g$ で 30 秒間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPD Column を Collection Tube に戻します。
 - ・ ペレットを混入させないでください。
8. 400 μl の WF Buffer を FAPD Column に加え、 $11,000\times g$ で 30 秒間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPD Column を Collection Tube に戻します。
 - ・ WF 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。
9. 700 μl の Wash Buffer を FAPD Column に加え、 $11,000\times g$ で 30 秒間遠心分離します。ろ液を捨て、FAPD 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。
10. 最大速度($\sim 18,000\times g$)で 3 分間遠心分離し、FAPD Column を乾燥させます。
重要! この操作で残留液を完全に取り除きます。
11. FAPD Column を新しい 1.5 ml チューブ(非付属品)に取り付けます。
12. 50~100 μl の Elution Buffer または ddH₂O を FAPD Column のメンブレンの中央に加え、1 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 をメンブレンの中心に完全に吸着させます。
メモ) 50 μl 未満で溶出しないでください。収量が低下する恐れがあります。
13. 最大速度($\sim 18,000\times g$)で 1 分間遠心分離し、プラスミド DNA を溶出します。DNA を -20°C で保管します。

● トラブルシューティング

DNA の収量が少ない	
培養細菌が完全に溶菌していない	- OD600 > 10 の場合、複数のチューブに分けて処理してください。 - FAPD3 Buffer の添加後、転倒混和での溶解で収量が改善します。
細菌細胞の増殖	インキュベート時間は 16 時間を超えないようにしてください。
菌体の不足	適切な振とうモードで培養した後、細菌細胞が予想される量 (OD600 > 1) まで増殖していることを確認してください。
溶出操作が不適切	Elution Buffer または ddH₂O が添加され、Filter Plate のメンブレンの中央に吸着していることを確認します。
溶出が不完全	DNA 断片のサイズが 10 kb より大きい場合、溶出効率を向上させるために、60~70℃に予熱した Elution Buffer または ddH₂O を使用してください。
WF Buffer と Wash Buffer の調製が正しくない	使用前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。
精製したプラスミドが他のアプリケーションで良い結果を出せない	
エタノールが残留している	洗浄ステップ後、最大速度 (~18,000 × g) で 5 分間遠心分離を行う、もしくは 60℃で 5 分間インキュベートしてカラムを乾燥させてください。
ゲノム DNA が混入してしまう	
細胞を適切に溶菌していない	- FAPD2 Buffer を加えた後は優しく転倒混和、5 分以上インキュベートしないでください。 - 培養しすぎた細菌は使用しないでください。
RNA が混入してしまう	
FAPD1 Buffer 中の RNase A が長期保管のために劣化	- FAPD1 Buffer に RNase A が加えられていることを確認してください。 - RNase A Solution は -20℃で保管してください。 - 細菌濃度が高濃度の場合、サンプル量を減らしてください。
プラスミド DNA が変性している	
ヌクレアーゼの混入	宿主細胞が endA⁺株のようにヌクレアーゼ活性が高い場合は、ヌクレアーゼ残留物を取り除くために、追加で下記の洗浄ステップを実施してください。 - ステップ 8 で 400 μl の WF Buffer を FAPD Column に加えた後、室温で 2 分間インキュベートしてください。 - 最大速度 (~18,000 × g) で 30 秒間遠心分離します。 - ステップ 9 の洗浄ステップを続けてください。
酵素処理に十分なプラスミド DNA が得られない	
溶出したプラスミド DNA がエタノール残留物を含む	ステップ 9 でろ液を捨てた後、ステップ 10 で 3 分間遠心分離してください。
電気泳動時、変性したプラスミド DNA が先に泳動してしまう	
FAPD2 Buffer でのインキュベーション時間が長すぎる	FAPD2 Buffer で 5 分以上のインキュベートしないでください。