

FavorPrep™ Plasmid Extraction 96-Well Kit

Cat. No. : FSPD107A (1 回分) / FSPD107B (2 回分) / FSPD107C (4 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

	FSPD107A (FAPWE 96001) (1 plate)	FSPD107B (FAPWE 96002) (2 plates)	FSPD107C (FAPWE 96004) (4 plates)
FAPD1 Buffer*	30 ml	65 ml	130 ml
FAPD2 Buffer	30 ml	65 ml	130 ml
FAPD3 Buffer	40 ml	85 ml	175 ml
Wash Buffer (Concentrate)**	15 ml	35 ml	35 ml × 2
Elution Buffer	15 ml	30 ml	65 ml
RNase A Solution	180 μl	360 μl	360 μl × 2
Filter Plate (96-Well Plasmid 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	4 pcs	8 pcs	16 pcs
*添加する RNase A Solution 量			
FAPD1 Buffer	120 μl	260 μl	520 μl
**添加する 96-100%エタノール量			
Wash Buffer (Concentrate)	60 ml	140 ml	140 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	1~5 ml/preparation
所要時間	60 分以内/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. Collect bacterial cells and resuspend the cells



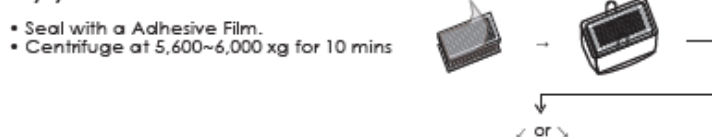
• STEP 2. Lysis



• STEP 3. Neutralization

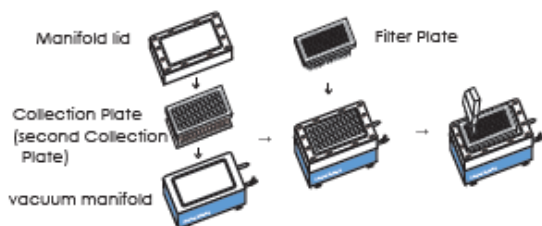


• STEP 4. Clarify lysate

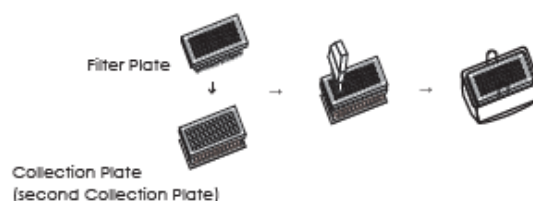


• STEP 5. Bind plasmid to Filter Plate

- Vacuum processing**
- Transfer the supernatant to Filter plate.
 - Apply -12 inches Hg vacuum until the wells have emptied.



- Centrifuge processing**
- Transfer the supernatant to Filter plate.
 - Centrifuge at 5,600~6,000 xg for 2 mins.



• STEP 6. Wash the Filter Plate and dry the membrane of the Filter Plate

- Add Wash Buffer.
- Apply vacuum at -12 inches Hg for 2 mins.
- Tap the Filter Plate tips on paper towel.
- Return the Filter Plate and the Collection Plate to the manifold.
- Apply vacuum at -12 inches Hg for an additional 10 mins.

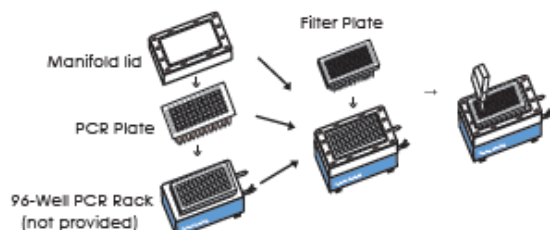


- Add Wash Buffer.
- Centrifuge at 5,600~6,000 xg for 10 mins.
- Stand the Filter plate on a clean paper towel at room temperature for 5 mins.

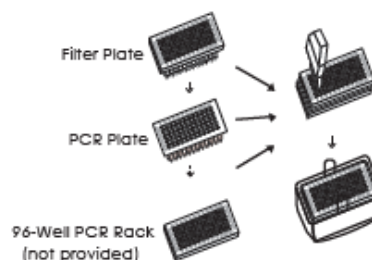


• STEP 7. Plasmid Elution

- Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 mins.
 - 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 plasmid.
- Alternative:** If the consistent volume of elutes are recommend, use centrifuge protocol to process this elution step. (STEP 7-A~7-D).



- Add Elution Buffer or ddH₂O to the Filter Plate. Stand for 3 mins.
- Centrifuge to elute plasmid.



● 重要事項

1. 本キットの構成品は RNase A Solution を除き、室温 (15~25℃) で保管してください。
2. RNase A Solution は受け取り次第、-20℃で保管してください。
3. FAPD1 Buffer は開封時に RNase A Solution を加え、4℃で保管してください。
4. 作業はゴム手袋、白衣を着用して行ってください。
5. 安全に取り扱うため、手順を開始する前に安全情報 (英語版マニュアル) をご確認ください。
6. FAPD2 Buffer に沈殿物が見られる場合、60℃で 5 分間温めてください。
7. Wash Buffer 開封時にエタノール (96~100%) を加えてください。
8. サンプルの損失やウェル間の汚染を防ぐため、プレートには Adhesive Film を貼り、十分に密封してください。Adhesive Film は再利用しないでください。

● 用意するもの

- 1) 滅菌済みのピペット、ピペットチップ
- 2) 96~100%エタノール (Wash Buffer 調製用)
- 3) 96-Well PCR ラック
- 4) 5,600~6,000 × g に到達可能なスイングローター式遠心機 (厚さ 8.0cm のプレートを収容可能)
吸引法を用いる場合
- 5) 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. サンプルの採集と再懸濁

- 1-1. 最大 2 ml のサンプルを Collection Plate (付属品) の各ウェルに移します。
- 1-2. Adhesive Film (付属品) で封をし、5,600~6,000 × g で 3 分間遠心分離します。2 ml 以上のサンプルを使用する場合は複数回に分けて 1-1 と 1-2 を再度繰り返します。
メモ) サンプル量は 5 ml を超えないよう調整してください。
- 1-3. 250 μ l の FAPD1 Buffer (RNase A 添加) を加え、ピペッティングでペレットを再懸濁します。
メモ) 再懸濁ではペレットを完全に溶解させてください。

STEP 2. 溶解

- 2-1. 250 μ l の FAPD2 Buffer を加え、直ちにピペッティングで 5 回混和します。
- 2-2. ライセートが透明になるまで室温で 3~5 分間静置します。

STEP 3. 中和

- 3-1. 350 μ l の FAPD3 Buffer を加え、直ちにピペッティングで混和します。
メモ) 混合液が完全に混ざっていることを確認してください。

STEP 4. ライセートの清澄化

4-1. 新しい Adhesive Film (付属品) で封をし、5,600～6,000 × g で 10 分間遠心分離します。

STEP 5. プラスミドの吸着

5-1. 新しい Collection Plate (付属品、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 (付属品) を取り付けます。

5-2. 混合液を移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。

5-3. ウェルが空になるまで -12inHg で真空引きをします。

5-4. バキュームマニホールドを真空から解放します。

5-5. 2 枚目の Collection Plate を捨てます。

5-6. Filter Plate を新しい Collection Plate (付属品、3 枚目) をバキュームマニホールドに取り付けます。

STEP 6. Filter Plate の洗浄と乾燥

6-1. Filter Plate の各ウェルに 650 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を加えます。

6-2. -12inHg で 2 分間真空引きをします。

6-3. バキュームマニホールドを真空から解放し、ろ液を捨てます。Filter Plate と Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。

6-4. Filter Plate の先端を清潔なペーパータオルで軽く叩き、残った液体を取り除きます。Filter Plate を Collection Plate に戻します

6-5. -12inHg で 10 分間真空引きをします。

6-6. バキュームマニホールドを真空から解放し、3 枚目の Collection Plate を捨てます。

STEP 7. プラスミドの溶出

代替方法: 一定量の溶出液が必要な場合は、＜遠心法＞の STEP 7 の方法で溶出してください。

7-1. Elution Plate (付属品) を 96-Well PCR ラック (非付属) 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: 96-Well PCR ラック)

7-2. 50～75 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を Filter Plate のメンブレンの中央に加え、3 分間静置します。

メモ) 溶出液は Elution Buffer 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。

50 μ l 未満の 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。

効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O をメンブレンの中央に完全に吸着させます。

7-3. 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。

7-4. バルブを開き、DNA を溶出します。

7-5. バキュームマニホールドを真空から解放します。

7-6. Elution Plate を取り出し、Adhesive Film (付属品) で封をします。プラスミドを -20℃ で保管します。

＜遠心法＞

STEP 1. サンプルの採集と再懸濁

1-1. 最大 2 ml のサンプルを Collection Plate (付属品) の各ウェルに移します。

1-2. Adhesive Film で封をし、5,600~6,000 × g で 3 分間遠心分離します。2 ml 以上のサンプルを使用する場合は複数回に分けて 1-1 と 1-2 を再度繰り返します。

メモ) サンプル量は 5 ml を超えないよう調整してください。

1-3. 250 μ l の FAPD1 Buffer (RNase A 添加) を加え、ピペッティングでペレットを再懸濁します。

メモ) 再懸濁ではペレットを完全に溶解させてください。

STEP 2. 溶解

2-1. 250 μ l の FAPD2 Buffer を加え、直ちにピペッティングで 5 回混和します。

2-2. ライセートが透明になるまで室温で 3~5 分間静置します。

STEP 3. 中和

3-1. 350 μ l の FAPD3 Buffer を加え、直ちにピペッティングで混和します。

メモ) 混合液が完全に混ざっていることを確認してください。

STEP 4. ライセートの清澄化

4-1. 新しい Adhesive Film で封をし、5,600~6,000 × g で 10 分間遠心分離します。

STEP 5. プラスミドの吸着

5-1. Filter Plate (付属品) を新しい Collection Plate (付属品、2 枚目) に取り付けます。

5-2. 混合液を移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。

5-3. 組み合わせたプレートを 5,600~6,000 × g で 2 分間遠心分離します。

5-4. 2 枚目の Collection Tube を捨てます。

5-5. Filter Plate を新しい Collection Plate (付属品、3 枚目) に取り付けます。

STEP 6. Filter Plate の洗浄と乾燥

6-1. Filter Plate の各ウェルに 650 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を加えます。

6-2. 組み合わせたプレートを 5,600~6,000 × g で 10 分間遠心分離します。

6-3. Filter Plate を清潔なペーパータオルの上に置き、室温で 5 分間静置します。

STEP 7. プラスミドの溶出

7-A. Elution Plate (付属品) を 96-Well PCR ラック (非付属) に取り付け、その上に Filter Plate を取り付けます。

(上: Filter Plate 中: Elution Plate 下: 96-Well PCR ラック)

7-B. 50~75 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を Filter Plate のメンブレンの中央に加え、3 分間静置します。

メモ) 溶出液は Elution Buffer 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。

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。

効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O をメンブレンの中央に完全に吸着させます。

7-C. 組み合わせたプレート を 5,600～6,000 × g で 5 分間遠心分離します。

7-D. Elution Plate を取り出し、Adhesive Film (付属品) で封をします。プラスミドを-20℃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	
細菌細胞が完全に溶解していない	- 菌濃度が濃すぎる場合があります。 - FAPD3 Buffer の添加後、ピペティングで沈殿物を溶解すると収量を改善できます。
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てください。 - 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。
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。
乾燥が不十分なため、カラムに残留エタノールが存在する	STEP 6 で Filter Plate の乾燥が正しく行われていることを確認してください。
ゲノム DNA が混入している	
ライセートの調製が不適切	- STEP 2 で FAPD2 Buffer の添加後、サンプル混合物を上下に優しくピペティングして十分に混和し、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 が混入している	
長期保存による FAPD1 Buffer 中の RNase A の活性不良	- 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。