

## FavorPrep™ Endotoxin Free Plasmid Extraction Mini Kit

Cat: FSPD3020 (4 回分) / FSPD3024 (100 回分)

本製品は研究用です ver. 202505

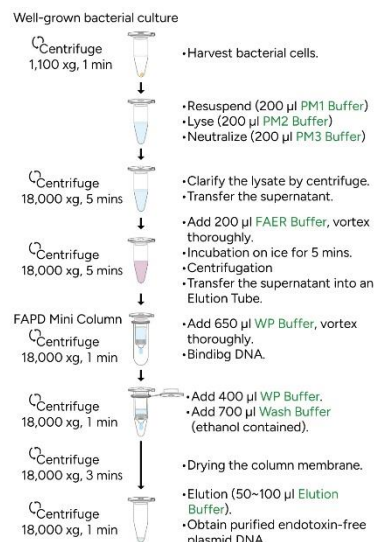
※本取扱説明書は RNase A 付属量の変更後の製品に対応しています。(2025 年 5 月以降順次切り替え)  
必ず、お手元にある製品の RNase A Solution の容量をご確認ください。  
下表と異なる場合は型番とロット番号をご記載の上、メール (technical@chiyoda-s.jp) にてご請求ください。

### ● キットの内容

|                                       | FSPD3020 (FSPD302-004)<br>(4 preps) | FSPD3024 (FSPD302-100)<br>(100 preps) |
|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| PM1 Buffer**                          | 1 ml                                | 25 ml                                 |
| PM2 Buffer                            | 1 ml                                | 25 ml                                 |
| PM3 Buffer                            | 1 ml                                | 25 ml                                 |
| FAER Buffer                           | 1 ml                                | 25 ml                                 |
| WP Buffer                             | 6 ml                                | 135 ml                                |
| Wash Buffer (Concentrate)*            | 1 ml                                | 20 ml                                 |
| Elution Buffer                        | 0.5 ml                              | 15 ml                                 |
| RNase A Solution                      | 10 $\mu$ l                          | 130 $\mu$ l                           |
| FAPD Mini Columns                     | 4 pcs                               | 50 pcs $\times$ 2                     |
| Collection Tubes                      | 4 pcs                               | 100 pcs                               |
| Elution Tubes                         | 4 pcs $\times$ 2                    | 100 pcs $\times$ 2                    |
| PM1 Buffer と Wash Buffer の調製          |                                     |                                       |
| PM1 Buffer に添加する RNase A Solution 量** | 4 $\mu$ l                           | 100 $\mu$ l                           |
| Wash Buffer に添加するエタノール量*              | 4 ml                                | 80 ml                                 |

### ● 基本情報

|          |                                                                    |
|----------|--------------------------------------------------------------------|
| 構成       | スピナラム(シリカメンブレン)                                                    |
| 結合量      | $\leq 60 \mu$ g DNA/column                                         |
| 所要時間     | < 30 分                                                             |
| サンプル量    | 1~5 ml of bacteria for high-copy number or low-copy number plasmid |
| プラスミドサイズ | < 150 kbp                                                          |
| 最小溶出量    | 50 $\mu$ l                                                         |



## ● 重要事項

1. 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. PM1 Buffer に RNase A Solution を加え、十分に混和し、4℃で保管してください。
4. Wash Buffer にエタノール (96~100%) を加え、十分に混和し、室温で保管してください。
5. PM2 Buffer に沈殿物が見られる場合、37℃の湯せんで温めて沈殿物を溶かしてください。
6. 遠心分離は 11,000~18,000 × g で行ってください。
7. 溶出ステップでは Elution Buffer を 65℃に予熱してから使用してください。

## ● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

### バクテリア細胞の用意

1. 1~5 ml の細菌培養液を 11,000 × g で 1 分間遠心分離し、ペレット化します。上清を完全に捨てます。

### 細胞の再懸濁・溶解・中和

2. 200 μl の PM1 Buffer (RNase A 添加) を加え、ボルテックスまたはピペッティングでペレットが残らないように細胞を完全に再懸濁します。
3. 200 μl の PM2 Buffer を加え、優しく 5~10 回転倒混和します。室温で 3~5 分間インキュベートし、細胞を溶解します。
  - ・ ゲノム DNA が切断されるため、ボルテックスはしないでください。
  - ・ 5 分以上インキュベートしないでください。
4. 200 μl の PM3 Buffer を加えます。直ちに優しく 5~10 回転倒混和し、混合液を完全に中和します。
  - ・ 沈殿が局在化するのを防ぐため、PM3 Buffer の添加後は直ちに混和してください。

### ライセートの清澄化

5. 18,000 × g で 5 分間遠心分離し、ライセートを清澄化する。白色沈殿を崩さないように注意しながら、上清を新しい 1.5ml 遠心チューブに移します。
  - ・ 白色沈殿を崩したり、遠心チューブに移したりしないでください。
  - ・ 上清が透明でない場合は、この操作を繰り返してください。

### エンドキシンの除去

6. 200 μl の FAER Buffer を加え、10 秒間ボルテックスします。濁った混合液を氷上で 5 分間インキュベートした後、10 秒間ボルテックスします。
  - ・ FAER Buffer は粘性のある溶液ですので、ピペッティングはゆっくり行ってください。
  - ・ 室温が 10℃以下の場合は、氷冷後、65℃で 5 分間加熱してください。
7. 18,000 × g で 5 分間遠心分離します。底の赤い相を崩さないように注意しながら、透明な上清を Elution Tube に移します。

- ・ 赤い相(エンドトキシンを含む)が混入した場合は、この操作を繰り返してください。

#### プラスミドの結合

8. 650  $\mu$ l の WP Buffer を加え、完全に混和させる。
9. FAPD Mini Column を Collection Tube に取り付け、上清を慎重に移します。18,000  $\times$  g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。

#### カラムの洗浄

10. 400  $\mu$ l の WP Buffer を加えます。18,000  $\times$  g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
11. 700  $\mu$ l の Wash Buffer(エタノール添加)を加えます。18,000  $\times$  g で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
12. 18,000  $\times$  g で 3 分間遠心分離し、FAPD Mini Column を乾燥させます。

#### 溶出

13. FAPD Mini Column を新しい Elution Tube に取り付けます。
14. 50~100  $\mu$ l の Elution Buffer またはエンドトキシンフリーの水(pH 7.5~9.0)を FAPD Mini Column のメンブレンの中央に加え、1 分間静置します。
15. 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。