

FavorPrep™ Blood Genomic DNA Extraction Mini Kit

Cat. No. : FABG1020 (4 回分) / FABG1023 (50 回分) / FABG1024 (100 回分) / FABG1026 (300 回分)

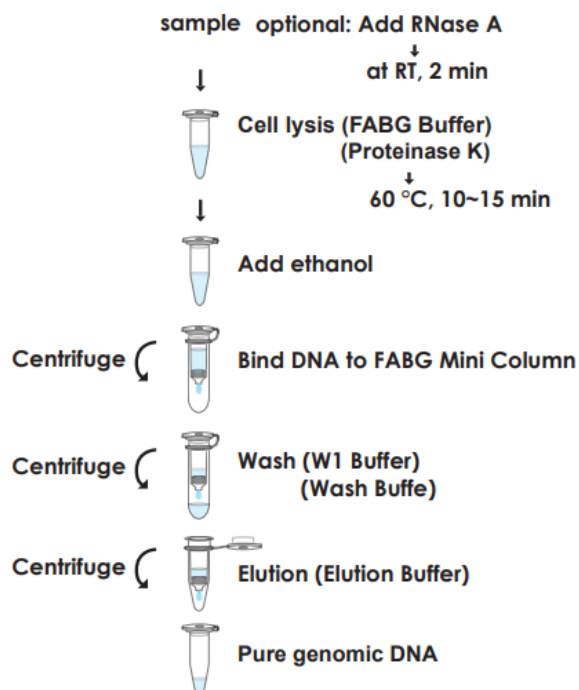
本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FABG1020 (FABGK 000-Mini) (4 preps)	FABG1023 (FABGK 001) (50 preps)	FABG1024 (FABGK 001-1) (100 preps)	FABG1026 (FABGK 001-2) (300 preps)
FABG Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml	70 ml
W1 Buffer (Concentrate)*	1.3 ml	22 ml	44 ml	124 ml
Wash Buffer (Concentrate)*	1 ml	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	1 ml	15 ml	30 ml	90 ml
Proteinase K (Liquid)	100 μ l	1050 μ l	1050 μ l $\times$ 2	1600 μ l $\times$ 4
FABG Mini Column	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
Collection Tube	8 pcs	100 pcs	200 pcs	600 pcs
Elution Tube	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
*添加する 96~100%エタノール量				
W1 Buffer	0.5 ml	8 ml	16 ml	45 ml
Wash Buffer	4 ml	40 ml	80 ml	200 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	全血・血清・血漿・体液: 最大 200 μ l 培養細胞: 最大 5×10^6 cells
操作時間	<30 分
結合量	60 μ g/column
収量	4~8 μ g/200 μ l 全血
溶出量	50~200 μ l



● 重要事項

1. 作業中はゴム手袋、白衣を着用してください。
2. 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。
3. 操作を始める前に、ドライバスまたはウォーターバスを 60℃と 65℃に設定してください。
4. 遠心分離は、最大速度(~18,000 × 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。

ヒント) ドライバスまたはウォーターバスを 60℃に設定してください。(ステップ 4 で使用)

Elution Buffer を 65℃に予熱してください。(ステップ 13 で使用)

1. 最大 200 μ l のサンプル(血液・血清・血漿・体液・パフィーコートなど)を遠心チューブ(非付属品)に移します。
メモ) ただし、サンプルが 200 μ l 以下の場合は PBS を加え、200 μ l に調整してください。
2. <オプション>RNA-free genomic DNA を抽出する場合
4 μ l の RNase A (100 mg/ml) を加え、室温で 2 分間インキュベートします。
3. 20 μ l の Proteinase K と 200 μ l の FABG Buffer を加え、パルスボルテックスで混和します。
メモ) Proteinase K は FABG Buffer に直接加えないでください。
4. 60℃で 15 分間インキュベートし、サンプルを溶解します。インキュベーション中は 3~5 分毎にボルテックスで混和します。
5. 数秒間スピンし、蓋の内側についた溶液を収集します。
6. 200 μ l のエタノール(96~100%)を混合液に加え、10 秒間パルスボルテックスで混和します。
7. 数秒間スピンし、蓋の内側についた溶液を収集します。
8. FABG Mini Column を Collection tube に取り付けます。混合液(沈澱物を含む)を FABG Mini Column 慎重に移し、6,000 × g で 1 分間遠心分離します。FABG Mini Column を新しい Collection tube に取り付けます。
9. 400 μ l の W1 Buffer を FABG Mini Column に加え、18,000 × g で 30 秒間遠心分離し、ろ液を捨てます。
メモ) W1 Buffer にエタノールが添加されていることを確認してください。
10. 750 μ l の Wash Buffer を FABG Mini Column に加え、30 秒間遠心分離し、ろ液を捨てます。
メモ) Wash Buffer にエタノールが添加されていることを確認してください。
11. 18,000 × g でさらに 3 分間遠心分離し、カラムを乾燥させます。
重要! この操作は残留液がその後の酵素処理を阻害することを防ぎます。
12. FABG Mini Column を Elution Tube に取り付けます。
13. 50~200 μ l の温めた Elution Buffer または ddH₂O (pH7.5~9.0) を FABG Mini 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 を完全に吸着させてください。
14. 18,000 × g で 1 分間遠心分離し、トータル DNA を溶出します。
15. 精製したトータル DNA は 4℃または、-20℃で保管してください。

<培養細胞>

1. 細胞の採取

a) 液体培養 (Cells grown in suspension)

- i. 1.5 ml 遠心チューブに適量のサンプル (最大 5×10^6 cell) を移します。
- ii. $300 \times g$ で 5 分間遠心分離します。
- iii. 慎重にかつ完全に上清を取り除きます。

b) 単層培養 (Cells grown in monolayer)

- i. トリプシンまたはスクレーパーを使用し、フラスコやシャーレから細胞を剥離させます。
- ii. 1.5ml 遠心チューブに適量のサンプル (最大 5×10^6 cell) を移します。
- iii. $300 \times g$ で 5 分間遠心分離します。
- iv. 慎重にかつ完全に上清を取り除きます。

2. ペレットを PBS で再懸濁し、 $200 \mu\text{l}$ に調整します。

3. 一般的なプロトコルのステップ 2 へ進みます。

<バフィーコート>

1. 全血を室温、 $3,300 \times g$ で 10 分間遠心分離し、分画します。

メモ) 上層は血漿、中間層が濃縮した白血球を含むバフィーコート、下層が赤血球です。

2. バフィーコートを取り出し、一般的なプロトコルのステップ 1 へ進みます。

メモ) バフィーコートは全血と比較し、5~10 倍量の DNA が抽出できます。

● トラブルシューティング

収量が十分でない	
サンプル量が少ない	サンプルを増やし、200 μ l に濃縮してください。全血を処理する場合は、上記に示すようにバフィーコートで処理してください。
細胞の溶解が不完全	
Proteinase K 活性が不十分	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。このとき、反応温度と時間が正しいことを確認してください。
FABG Buffer とサンプルの混和が不十分	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。このとき、サンプルと FABG Buffer を直ちにパルスボルテックスで十分に混合してください。
インキュベーション時間が短い	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。このとき、インキュベーション時間を延長し、残留微粒子がないことを確認してください。
FABG Mini Column に移す前のライセートにエタノール不添加	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。
Wash Buffer の調製の不備	
Wash Buffer にエタノール不添加	最初に Wash Buffer を使用する時、エタノール (96~100%) を必要量加えてください。新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。
Wash Buffer に加えたエタノールの濃度が異なる	
DNA 溶出が不十分	
ddH ₂ O の pH が酸性	ddH ₂ O の pH を 7.5~9.0 に調整してください。または、付属の Elution Buffer を使用してください。
Elution Buffer または ddH ₂ O がカラムに完全に吸着していない	Elution Buffer または、ddH ₂ O を加えた後、FABG Mini Column を 5 分間静置してください。
カラムが目詰まりを起こしている	
細胞溶解液に非溶解性断片が含まれている	新しいサンプルで抽出操作を再度行ってください。血液サンプルの場合は、血栓の形成を防ぐため、サンプルと抗凝固剤を十分に混和してください。
サンプルの粘性が高い	サンプル量を減らしてください。
溶出した DNA が変性している	
サンプルが古い	新鮮なサンプルを使用してください。
ゲル電気泳動用バッファーが DNase に汚染されている	ゲル電気泳動には新しいランニングバッファーを使用してください。