

FavorPrep™ Blood Genomic DNA Extraction Maxi Kit

Cat. No. : FABG1050 (2 回分) / FABG1051 (10 回分) / FABG1052 (24 回分)

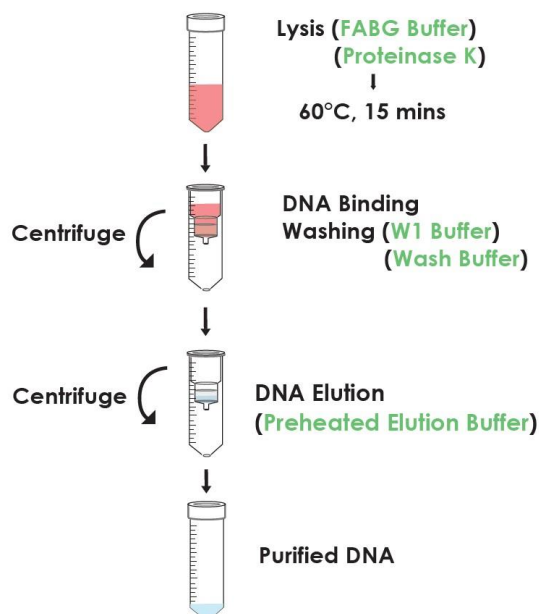
本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FABG1050 (FABGK 000-Maxi)	FABG1051 (FABGK 003)	FABG1052 (FABGK 003-1)
	(2 preps)	(10 preps)	(25 preps)
Proteinase K (Liquid)	1050 μ l $\times$ 2	10.5 ml	13 ml $\times$ 2
FABG Buffer	22 ml	110 ml	265 ml
W1 Buffer (Concentrate)*	6.5 ml	33 ml	88 ml
Wash Buffer (Concentrate)*	3 ml	20 ml	40 ml
Elution Buffer	6 ml	30 ml	60 ml
FABG Maxi Columns	2 pcs	10 pcs	25 pcs
Elution Tubes (50 ml tube)	2 pcs	10 pcs	25 pcs
*添加する 96~100%エタノール量			
W1 Buffer	2.5 ml	12 ml	32 ml
Wash Buffer	12 ml	80 ml	160 ml

● 基本情報

構成	スピンカラム (シリカメンブレン)
サンプル量	新鮮または凍結血液: 最大 10 ml 培養細胞: 最大 1×10^8 個
結合量	$\leq 500 \mu$ g DNA /column
平均収量	35 μ g/ml 全血
操作時間	1 時間
溶出量	0.5~1 ml



● 用意するもの

1. ピペット、ピペットチップ
2. 4,000 $\times$ g まで到達可能な遠心機
3. インキュベーター
4. オープン (オプションを行う場合)
5. エタノール (96~100%)
6. ボルテックスミキサー

● 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. インキュベーターを 60℃に予熱してください。
3. 遠心分離は、スイングローター式の遠心機を使用し、4,000～6,000 × gで行ってください。
4. ステップ 11 で使用する Elution Buffer または ddH₂O は予熱してください。

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

<血液>

1. 最大 10 ml のサンプル（全血・バフィーコート）を 50ml 遠心チューブ（非付属品）に移します。
メモ）サンプルが 10 ml 以下の場合は PBS を加え、10 ml に調整してください。
2. 1,000 μl の Proteinase K を加え、ボルテックスで十分に混和します。その後、10 ml の FABG Buffer を加え、パルスボルテックスで十分に混和します。
メモ）Proteinase K は FABG Buffer に直接加えないでください。
3. 60℃で 15 分間インキュベートし、サンプルを溶解させます。インキュベート中は、3～5 分毎に転倒混和してください。
4. <オプション>RNA-free genomic DNA を抽出する場合
80 μl の 100 mg/ml RNase A（非付属品）を加え、室温で 10 分間インキュベートします。
5. 10 ml のエタノール（96～100%）を加え、ボルテックスで十分に混和します。沈殿が生じた場合は、ピペッティングにより除去してください。
6. FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブ（非付属品）に取り付け、15.5 ml の混合液（沈殿を含む）を慎重に移します。キャップを閉め、4,000～6,000 × g で 3 分間遠心分離します。
7. ろ液を捨て、残りの混合液も FABG Maxi Column に加えます。キャップを閉め、4,000～6,000 × g で 3 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。
8. 4 ml の W1 Buffer（エタノール添加）を加え、キャップを閉めて 4,000～6,000 × g で 3 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブに戻します。
メモ）W1 Buffer にエタノール（96～100%）が添加されていることを確認してください。
9. 7 ml の Wash Buffer（エタノール添加）を加え、キャップを閉めて 4,000～6,000 × g で 15 分間遠心分離します。ろ液を捨て、FABG Maxi Column を 50 ml 遠心チューブに戻します。
メモ）Wash Buffer にエタノール（96～100%）が添加されていることを確認してください。
重要！ 液体が完全に除去されたことを確認してください。残液がある場合は 70℃の真空オーブンで 3 分間カラムを乾燥させます。
10. FABG Maxi Column を Elution Tube（付属品）に取り付けます。
11. 0.5～1 ml の予熱した Elution Buffer もしくは ddH₂O（pH 7.5～9.0）を FABG Maxi Column のメンブレンの中央に加え、室温で 5 分間静置します。
重要！ 効率的な溶出のため、5 分間静置し、Elution Buffer が完全に吸着したことを確認してください。
12. 4,000 × g で 2 分間遠心分離し、トータル DNA を溶出します。
メモ）標準的な溶出量は 1 ml です。より多くの収量が必要な場合はステップ 11 と 12 を繰り返してください。

＜培養細胞＞

1. 最大 1×10^8 個の細胞を 50 ml 遠心チューブ（非付属品）に移します。4,000～6,000 × g で 5 分間遠心分離し、細胞をペレット化します。（接着している細胞を使用する場合は、トリプシン処理をしてから採取してください）
2. 10 ml の PBS で再懸濁します。
3. ＜血液＞プロトコルのステップ 2 へ進みます。

● トラブルシューティング

収量が十分でない	
細胞の溶解が不十分	
Proteinase K 活性が不十分	新しいサンプルで再度抽出操作を行う。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 と混和が不十分	新しいサンプルで再度抽出操作を行う。サンプルと FABG Buffer をすぐに十分にパルスボルテックスで混和してください。
インキュベートが不十分	新しいサンプルで再度抽出操作を行う。インキュベート時間を延長し、溶け残りがいないことを確認してください。
FABG Maxi Column に移す前にエタノールが加えられていない	新しいサンプルで再度抽出操作を行う。
Wash Buffer の調製が不適切	
W1, Wash Buffer にエタノールが加えられていない	W1, Wash Buffer にエタノール (96～100%) が加えられていることを確認する。新しいサンプルで再度抽出操作を行う。
W1, Wash Buffer に添加するエタノールの容量もしくは割合が不適切	W1, Wash Buffer にエタノール (96～100%) が加えられていることを確認する。新しいサンプルで再度抽出操作を行う。
ゲノム DNA の溶出効率が悪い	
溶出用の水 (ddH ₂ O) の pH が酸性	ddH ₂ O の pH が 7.5～9.0 であることを確認する。
	キットに付属の Elution Buffer を使用する。
Elution Buffer もしくは ddH ₂ O の吸着が不完全	Elution Buffer もしくは ddH ₂ O を添加後、FABG Maxi Column を 5 分間静置し、遠心分離を行う。
カラムが詰まっている	
血液サンプルに血栓が含まれている	新しいサンプルで再度抽出操作を行う。血液サンプルは抗凝固剤とよく混ぜ合わせ、血液の凝固を防止する。
サンプルの粘度が高い	サンプルの量を減らす。
溶出した DNA の分解	
サンプルが古い	サンプルは常に新鮮もしくは保存状態の良いものを使用する。
ゲル電気泳動用バッファーに DNase が混入している	ゲル電気泳動に使用するバッファーは新しいものを使用する。