

FavorPrep™ Stool DNA Extraction Mini Kit

Cat. No. : FAST1020 (4 回分) / FAST1023 (50 回分) / FAST1024 (100 回分)

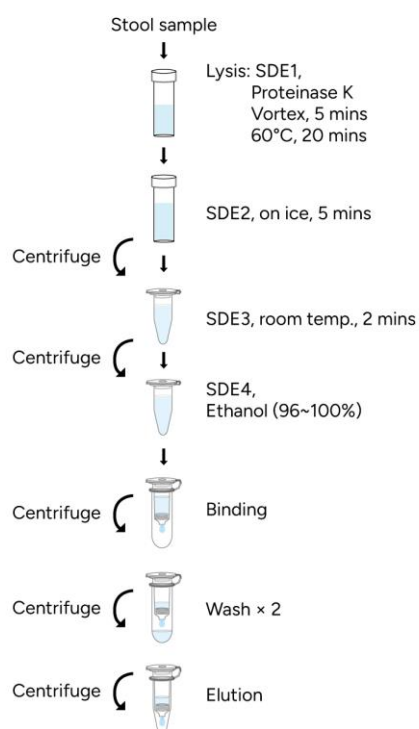
本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FAST1020 (FASTI 000)	FAST1023 (FASTI 001)	FAST1024 (FASTI 001-1)
	(4 preps)	(50 preps)	(100 preps)
SDE1 Buffer	1.8 ml	20 ml	40 ml
SDE2 Buffer	1.2 ml	7 ml	14 ml
SDE3 Buffer	1.2 ml	15 ml	30 ml
SDE4 Buffer	3 ml	20 ml	40 ml
Wash Buffer (Concentrate)*	1.5 ml	20 ml	35 ml
Elution Buffer	1.5 ml	15 ml	30 ml
Proteinase K (Liquid)	100 μ l	1050 μ l	1050 μ l $\times$ 2
SDE Mini Columns	4 pcs	50 pcs	50 pcs $\times$ 2
Collection Tubes	8 pcs	100 pcs	100 pcs $\times$ 2
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
Bead Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs
*添加する 96~100%エタノール量			
Wash Buffer	6 ml	80 ml	140 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	50~200 mg
操作時間	< 60 分
溶出量	50~200 μ l



● 重要事項

1. 本製品を操作する際は、ゴム手袋と白衣を着用してください。
2. SDE1 Buffer に沈殿が見られる場合は、60℃で 10 分間温めてください。
3. Wash Buffer は開封時にエタノール(96~100%)を加えてください。
4. 操作前にドライバスもしくはウォーターバスを 60℃に温めてください。グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、95℃に温めたドライバスもしくはウォーターバスも用意してください。
5. 遠心分離は、最大速度(~18,000 × g)で行ってください。
6. 操作前に Elution Buffer もしくは ddH₂O を 60℃に温めてください。

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

1. 最大 200 mg の糞便サンプルを Bead Tube に移し、氷上に静置します。
メモ) サンプルが乾燥している場合は、≤50 mg に減らしてください。
サンプルが液状の場合は、200 μl を移してください。
2. 300 μl の SDE1 Buffer と 20 μl の Proteinase K を加えます。5 分間ボルテックスし、60℃で 20 分間インキュベートします。インキュベート中は、5 分毎にボルテックスしてください。
 - ・ サンプルを完全に混和してください。
 - ・ グラム陽性細菌から DNA を抽出する場合は、Proteinase K を加えた後 95℃で 5 分間インキュベートしてください。
3. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
4. 混合液を冷まし、100 μl の SDE2 Buffer を加えます。ボルテックスで十分に混和し、氷上で 5 分間インキュベートします。
5. 最大速度で 5 分間遠心分離します。
6. 上清を 1.5ml 遠心チューブ(非付属品)に慎重に移し、ペレットを捨てます。
 - ・ ペレット等が混入しないようにしてください。
7. 200 μl の SDE3 Buffer を加えます。ボルテックスで十分に混和し、室温で 2 分間インキュベートします。
メモ) SDE3 Buffer は使用前にボルテックスし、沈殿物を溶解してください。
 - ・ SDE3 Buffer をピペティングしやすくするため、1 ml チップの先端を切ってください。
8. 最大速度で 2 分間遠心分離します。
9. 250 μl の上清を 1.5ml 遠心チューブ(非付属品)に慎重に移します。
 - ・ ペレット等が混入しないようにしてください。
10. <オプション>RNA-free genomic DNA を抽出する場合
1 μl の 100 mg/ml RNase A(非付属品)を加えます。十分に混和し、室温で 2 分間インキュベートします。
11. 数秒間スピンし、蓋についた溶液を回収します。
12. 250 μl の SDE4 Buffer と 250 μl のエタノール(96~100%)を加え、パルスボルテックスで混和します。
13. SDE Mini Column を Collection Tube に取り付け、すべての混合液を移します。最大速度で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。SDE Mini Column を新しい Collection Tube に取り付けます。
14. 750 μl の Wash Buffer(エタノール添加)を加え、最大速度で 1 分間遠心分離します。ろ液を捨て、SDE

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。

15. ステップ 14 を繰り返します。

16. 最大速度で 3 分間遠心分離し、SDE Mini Column を乾燥させます。

重要！ この操作により、残留液がその後の酵素処理を阻害することを防ぎます。

17. SDE Mini Column を Elution Tube (付属品) に取り付けます。50~200 μ l の予熱した Elution Buffer または ddH₂O を SDE Mini Column のメンブレンの中央に加え、室温で 2 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 をメンブレンの中央に加え、完全に吸着させてください。

18. 最大速度で 1 分間遠心分離し、DNA を溶出します。

● トラブルシューティング

収量が少ない	
サンプルの保管方法が不適切	サンプルは-20℃で保管する
サンプル中の細胞が少ない	サンプル量を増やす
細胞が溶解していない	
サンプルのホモジナイズが不足	ホモジナイズの時間を長くする
SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルテックスで十分に混和する
Proteinase K が機能していない	反応温度と時間が正しいか確認する
DNA がカラムに吸着していない	
サンプルにエタノールを加えていない	サンプルを SDE Mini Column に加える前、エタノール(96~100%)を加える
サンプルとエタノールが十分に混ざっていない	サンプルを SDE Mini Column に加える前、エタノール(96~100%)と完全に混ざっているか確認する
Wash Buffer が正しく準備されていない	
Wash Buffer にエタノールが加えられていない	Wash Buffer に開封時に正しい分量のエタノール(96~100%)が加えられているか確認する
Wash Buffer に正しい量のエタノールが加えられていない	Wash Buffer に開封時に正しい分量のエタノール(96~100%)が加えられているか確認する
DNA の溶出が不十分	
溶出に使用する ddH ₂ O の pH が酸性	ddH ₂ O の pH が 7.5~9.0 の間であることを確認する
	Elution Buffer(付属品)を使用する
Elution Buffer もしくは ddH ₂ O がメンブレンに完全に吸着していない	Elution Buffer または ddH ₂ O の添加後、遠心前に SDE Mini Column を 5 分間静置する
DNA の精製度が低い A260/A280 比が低い	
細胞が溶解していない	
サンプルのホモジナイズが不足	ホモジナイズの時間を長くする
SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K がよく混ざっていない	SDE1 Buffer、SDE2 Buffer、Proteinase K を加えたらすぐにパルスボルテックスで十分に混和する
Proteinase K が機能していない	反応温度と時間が正しいか確認する