

FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction 96-Well Kit

Cat. No. : FATG107A (1 回分) / FATG107B (2 回分) / FATG107C (4 回分)

本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FATG107A (FADWE 96001)	FATG107B (FADWE 96002)	FATG107C (FADWE 96004)
	(1 plate)	(2 plates)	(4 plates)
FATG1 Buffer	40 ml	80 ml	80 ml × 2
FATG2 Buffer	40 ml	80 ml	80 ml × 2
W1 Buffer (Concentrate)*	44 ml	88 ml	88 ml × 2
Wash Buffer (Concentrate)*	17.5 ml	35 ml	35 ml × 2
Elution Buffer	30 ml	60 ml	60 ml × 2
Proteinase K (Liquid)	1050 μ l × 2	1050 μ l × 4	1050 μ l × 8
Filter Plate (96-Well DNA 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 96~100%エタノール量			
W1 Buffer	16 ml	32 ml	32 ml × 2
Wash Buffer	70 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 /preparation	新鮮/凍結血液、パフィーコート、血清、血漿、体液: 最大 200 μ l 動物組織: 最大 25 mg 動物培養細胞: 最大 5×10^6 cells
所要時間	<90 分/plate
結合量	$\leq 30 \mu$ g DNA/well
溶出量	50~200 μ l
方法	遠心法 もしくは 吸引法

• STEP 1. Sample preparation and lysis

For whole blood, buffy coat, serum, plasma, body fluids

- Add Proteinase K in each well of Collection Plate (first Collection Plate).
- Add sample.
- Add FATG2 Buffer and mix completely.
- Sealing with Adhesive Film.
- Incubate the plate with shaking at 60°C for 20 mins.

For animal tissues and cultured cells

- Collect samples in a Collection Plate (first Collection Plate).
- Add FATG1 Buffer and Proteinase K.
- Seal with Adhesive Film. Incubate the plate with shaking at 60°C for 1-2 hrs.
- Add FATG2 Buffer and mix completely.
- Seal with Adhesive Film. Further incubate the plate at 70°C for 20 mins.

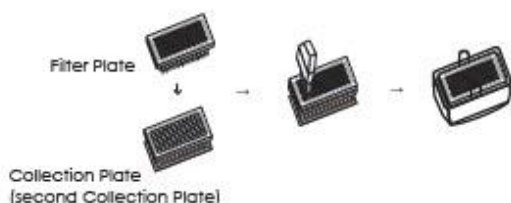
• STEP 2. Adjust binding condition:



• STEP 3. Bind DNA to Filter Plate:

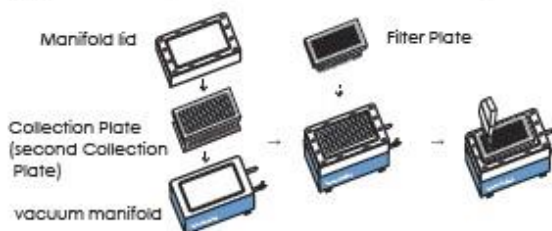
Centrifuge protocol

- Combine the plates.
- Transfer the sample mixture to Filter Plate.
- Centrifuge at 5,600~6,000 xg for 5 mins.



Vacuum protocol

- Assemble plates to vacuum manifold.
- Transfer the sample mixture to Filter Plate.
- Apply 10 inches Hg vacuum until the well have emptied.



• STEP 4. Wash the Filter Plate Twice (W1 Buffer and Wash Buffer)

- Add W1 Buffer. Centrifuge at 5,600~6,000 xg for 2 mins.
- Add Wash Buffer. Centrifuge at 5,600~6,000 xg for 15 mins.



- Add W1 Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg.
- Add Wash Buffer. Apply vacuum at 10 inches Hg.



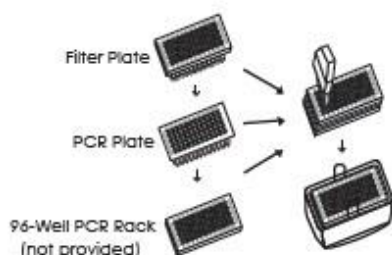
• STEP 5. Dry the membranes of Filter Plate:

- Stand the Filter Plate on a clean paper towel at room temperature for 10 mins.

- Tap the Filter Plate tips on paper towel.
- Return the Filter Plate and the Collection Plate to the manifold.
- Apply maximum vacuum for an additional 10 mins.

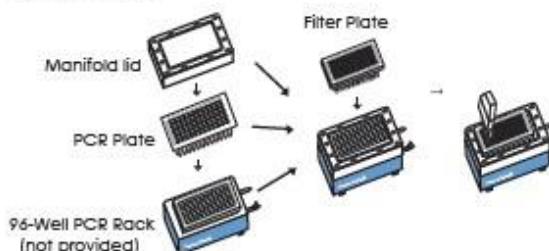
• STEP 6. DNA Elution:

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



- 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 15 inches Hg.
- Open the manifold valve to apply vacuum to elute DNA.

Alternative: If the consistent volume of elutes are needed, the centrifuge protocol are recommended to perform the elution step. (Page 3, STEP 6)



● 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. Buffer には刺激物が含まれるものがあります。操作する際には手袋と白衣を着用してください。
3. 安全に取り扱うため、操作前に安全情報 (英語版マニュアル) をご確認ください。
4. 本書に記載されている最大サイズを超えるサンプルは使用しないでください。
5. W1Buffer および Wash Buffer は開封時にエタノール (96～100%) を加えてください。
6. 操作前に、インキュベーターまたはオーブンを 60℃ および 70℃ に設定してください。
7. 溶出ステップで使用する Elution Buffer は 70℃ に予熱してください。

● 用意するもの

- 1) 96～100%エタノール
- 2) <オプション> RNase A (50 mg/ml)
- 3) 96-Well PCR ラック
- 4) 各種機器
 - ・ シェーカーインキュベーターまたはオーブン (60℃ および 70℃)
 - <遠心法を用いる場合、もしくは吸引法の溶出ステップで遠心法を用いる場合>
 - ・ 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>
 - ・ 96-Well Plate 対応のバキュームマニホールド、15inHg に到達可能な真空ポンプ

● サンプル量と収量

サンプル	推奨されるサンプル量		平均収量 (μg)
全血 (最大 200 μl)	200 μl		4～10
低収量組織 (Mouse) (最大 25 mg)	心臓	25 mg	5～15
	脳	25 mg	5～25
	腎臓	25 mg	20～30
	肺	25 mg	5～10
	腸	10 mg	5～10
高収量組織 (Mouse) (最大 10 mg)	脾臓	10 mg	5～30
動物細胞 (最大 5 × 10 ⁶ cells)	5 × 10 ⁶ cells		15～20

● 操作 ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

<遠心法>

- ヒント) ・ 1 ウェルにつき 75～200 μl の Elution Buffer または ddH₂O を 70℃ に予熱してください。(STEP 6 で使用)

- ・ 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。

STEP 1. サンプルの溶解

全血、パフィーコート、血清、血漿、体液

- ・ 20 μ l の Proteinase K を Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。
- ・ 200 μ l のサンプルを各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
メモ) サンプル量が 200 μ l 未満の場合、PBS を加えて調整してください。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ STEP 2 に進みます。

動物組織

- ・ 25 mg の動物組織 (もしくは 0.5 cm のマウス尾) を Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。肝臓や脾臓など DNA 含有量の多い組織の場合は 10 mg までサンプル量を減らしてください。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K を各ウェルに加えます。
- ・ Adhesive Film で封をします。サンプルが完全に溶解するまで、60°C、100 rpm で 1~2 時間もしくはそれ以上振とう培養します。あらかじめ液体窒素で粉碎、もしくは適切な機械でホモジナイズしておくインキュベーション時間を短縮できます。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。透明になるまで、70°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ STEP 2 に進みます。

動物培養細胞

- ・ サンプルを Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。
- ・ 1,000 $\times$ g で 10 分間遠心分離し、細胞をペレット化させます。上清を捨てます。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K を各ウェルに加え、ピペッティングによりペレットを再懸濁します。
- ・ Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 10~20 分間振とうし、サンプルを溶解します。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。透明になるまで、70°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ STEP 2 に進みます。

STEP 2. 結合条件の調製

- 各ウェルに 200 μ l のエタノール(96~100%)を加えます。直ちに 5~10 回ピペッティングで混和します。

STEP 3. DNA の結合

- Filter Plate(付属品)を新しい Collection Plate(付属品、2 枚目)に取り付けます。
- 混合液を各ウェルに移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。Adhesive Film で封をします。
- 組み合わせたプレートを 5,600~6,000 $\times$ g で 2 分間遠心分離します。
- 2 枚目の Collection Plate を捨てます。
- Filter Plate を新しい Collection Plate(付属品、3 枚目)に取り付けます。

STEP 4. Filter Plate の洗浄

- 400 μ l の W1 Buffer(エタノール添加)を各ウェルに加えます。
- 5,600~6,000 $\times$ g で 2 分間遠心分離します。
- ろ液を捨て、Filter Plate を Collection Plate に戻します。
- 650 μ l の Wash Buffer(エタノール添加)を各ウェルに加えます。
- 5,600~6,000 $\times$ g で 15 分間遠心分離します。
- 3 枚目の Collection Plate を捨てます。

STEP 5. Filter Plate の乾燥

- Filter Plate をペーパータオル(非付属品)の上に置き、室温で 10 分間静置します。

STEP 6. DNA の溶出

- Filter Plate を Elution Plate(付属品)に取り付け、96-Well PCR ラック(非付属品)の上に重ねます。(上: Filter Plate 中: Elution Plate 下: 96-Well PCR ラック)
- 50~200 μ l の予熱した 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。

重要！ 効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。

重要！ 50 μ l 未満の Elution Buffer または ddH₂O で溶出しないでください。収量減少の恐れがあります。

- 組み合わせたプレートを 5,600~6,000 $\times$ g で 5 分間遠心分離し、DNA を溶出します。
- Elution Plate に Adhesive Film で封をし、DNA を-20℃で保管します。

<吸引法>

- ヒント)
- 1 ウェルにつき 75~200 μ l の Elution Buffer または ddH₂O を 70℃に予熱してください。(STEP 6 で使用)
 - 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。

STEP 1. サンプルの溶解

全血、バフィーコート、血清、血漿、体液

- ・ 20 μ l の Proteinase K を Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。
- ・ 200 μ l のサンプルを各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
メモ) サンプル量が 200 μ l 未満の場合、PBS を加えて調整してください。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ STEP 2 に進みます。

動物組織

- ・ 25 mg の動物組織 (もしくは 0.5 cm のマウス尾) を Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。肝臓や脾臓など DNA 含有量の多い組織の場合は 10 mg までサンプル量を減らしてください。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K を各ウェルに加えます。
- ・ Adhesive Film で封をします。サンプルが完全に溶解するまで、60°C、100 rpm で 1~2 時間もしくはそれ以上振とう培養します。あらかじめ液体窒素で粉碎、もしくは適切な機械でホモジナイズしておくインキュベーション時間を短縮できます。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。透明になるまで、70°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ STEP 2 に進みます。

動物培養細胞

- ・ サンプルを Collection Plate (付属品、1 枚目) の各ウェルに移します。
- ・ 1,000 $\times$ g で 10 分間遠心分離し、細胞をペレット化させます。上清を捨てます。
- ・ 200 μ l の FATG1 Buffer と 20 μ l の Proteinase K を各ウェルに加え、ピペッティングによりペレットを再懸濁します。
- ・ Adhesive Film で封をします。60°C、100 rpm で 10~20 分間振とうし、サンプルを溶解します。
- ・ <オプション> RNase-free ゲノム DNA が必要な場合
5 μ l の RNase A (50 mg/ml, 非付属品) を各ウェルに加え、室温で 4 分間インキュベートします。
- ・ 200 μ l の FATG2 Buffer を各ウェルに加え、ピペッティングで混和します。
- ・ Adhesive Film で封をします。透明になるまで、70°C、100 rpm で 20 分間振とうします。
- ・ STEP 2 に進みます。

STEP 2. 結合条件の調製

- ・ 200 μ l のエタノール (96~100%) を各ウェルに加え、直ちに 5~10 回ピペッティングで混和します。

STEP 3. DNA の結合

- ・ 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。

- ・ 混合液を各ウェルに移し、1 枚目の Collection Plate を捨てます。
- ・ ウェルが空になるまで 10inHg で真空引きをします。
- ・ 2 枚目の Collection Plate を捨てます。
- ・ Filter Plate と新しい 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 4. Filter Plate の洗浄

- ・ 400 μ l の W1 Buffer (エタノール添加) を各ウェルに加えます。
- ・ ウェルが空になるまで 10inHg で真空引きをします。
- ・ ろ液を捨て、Filter Plate と Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。
- ・ 650 μ l の Wash Buffer (エタノール添加) を各ウェルに加えます。
- ・ ウェルが空になるまで 10inHg で真空引きをします。
- ・ ろ液を捨て、Filter Plate と Collection Plate をバキュームマニホールドに戻します。

STEP 5. Filter Plate の乾燥

- ・ Filter Plate の先端を清潔なペーパータオルで軽くたたき、残留液を取り除きます。
- ・ Filter Plate を Collection Plate に戻します。
- ・ 10 分間、真空引きをします。
- ・ 3 枚目の Collection Plate を捨てます。

STEP 6. DNA 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 6 の方法で溶出してください。

- ・ Elution Plate (付属品) を 96-Well PCR ラック (非付属品) 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)
- ・ 50~200 μ l の予熱した 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。

重要! 効果的な溶出のため、Elution Buffer または ddH₂O が完全に吸着したことを確認してください。

重要! 50 μ l 以下の Elution Buffer または ddH₂O で溶出しないでください。収量減少の恐れがあります。

- ・ バキュームマニホールドのバルブを閉じ、15inHg で真空引きをします。
- ・ バルブを開き、DNA を溶出します。
- ・ Elution Plate に Adhesive Film で封をし、DNA を -20°C で保管します。