



GEL からの精製キット

Micro Elute GEL Purification Kit

目次

基本データ	3
キットの内容	3
重要事項	3
操作	4
トラブルシューティング	6

* 本製品は研究用です *



✚ 基本データ

サンプル	200mg までのアガロースゲル
溶出量	10-12 μ l
結合量	5 μ g
回収率	80-90%
所要時間	20 分

✚ キットの内容

	FAMGK 001 (50 preps)	FAMGK 001-1 (200 preps)
MG Buffer	65 ml	260 ml
Wash Buffer	12.5 ml 開封後、エタノール(96-100%)を 50ml 加えてください。	25 ml \times 2 開封後、エタノール(96-100%)を 1 ボトルに 100ml 加えてください。
Elution Buffer	5 ml	5 ml
MG Column	50 pcs	200 pcs
Collection Tube	50 pcs	200 pcs

✚ 重要事項

1. 本製品使用時は白衣、ゴム手袋、保護ゴーグルを着用してください。
2. Wash Buffer へエタノール(96-100%)を忘れずに加えてください。
3. ゲルの余分な部分は切り落とし、最小限の量を使用するようにしてください(最大 200mg までのゲルを使用してください。200mg 以上処理する場合は、複数のチューブに分けてサンプルを用意してください。)
4. 遠心分離は、14,000rpm または 10,000 \times g で行ってください。

操作フロー

ステップ 4 のためにドライバスを 55°C に設定しておきます。

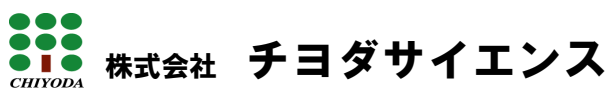
1. 目的の DNA を含んだゲルの部分を切り出します。
(余分なゲルは切り落とし、最小限の量を使用してください。)
2. 200mg までの切り出したゲルを 1.5ml チューブ(お客様でご用意ください)に移します。
* 最大量は 200mg です。200mg 以上のゲルを処理する場合は、複数のチューブを使用してください。
3. サンプルの 3 倍量の MG Buffer を加え、ボルテックスで混和します。
* 例: 200mg ゲルに 600 μ l の MG Buffer を加えてください。
* 2%以上のゲルを使用する場合は、サンプル量の 6 倍の MG Buffer を加えてください。
4. ゲルが溶解するまで 10 分から 15 分 55°C でインキュベートします。(3 分毎にチューブを転倒混和してください。)
* インキュベート中に一定間隔で、ボルテックスすることで、ゲルの溶解を促進することができます。
* 次のステップへ進む前にゲルが完全に溶解しているか確認してください。
5. サンプル量と同量のイソプロパノールを加え、混和します。
* 例: 200mg ゲルに 200 μ l のイソプロパノールを加えてください。
6. 600 μ l のサンプル溶液を MG Column へアプライし、1 分遠心分離し、ろ液を捨てます。
7. サンプルを全て処理するまで、ステップ 6 を繰り返し行います。
8. 600 μ l の Wash Buffer(96–100%のエタノールを事前に加えてください。)を MG Column へ加えます。30 秒遠心分離し、ろ液を捨てます。
9. 再度 1 分遠心分離し、MG Column を乾かします。
* このステップは、酵素反応を阻害する物質を取り除くために重要なステップです。
10. MG Column を 1.5ml チューブ(お客様でご用意ください。)へ取り付けます。

11. 10–12 μ l の Elution Buffer または ddH₂O をカラムの中央へアプライします。
Elution Buffer または滅菌水がカラム繊維に確実に吸収されるまで 2 分ほど静置します。
* 10 μ l の Elution Buffer を使用した場合、平均 9 μ l 溶出できます。
* Elution Buffer をカラム膜中央へ加え、よく吸着させてください。
重要事項:12 μ l より少量で溶出した場合、収量が低下する恐れがあります。
12. 30 秒遠心分離し、DNA を溶出します。

✚ トラブルシューティング

トラブル	原因	解法
ゲルが溶解しない	アガロースゲルが 2%以上	<ul style="list-style-type: none"> サンプルに対して 6 倍量の MG Buffer を加えてください。
	ゲル断片が大きすぎる	<ul style="list-style-type: none"> ゲルスライスが 200mg よりも大きい場合はいくつかのチューブに分けて溶解します
低回収率	サンプル量が多すぎる	<ul style="list-style-type: none"> 200mg 以上のサンプルを 1 カラムへ使用しないでください。
	DNA の溶出が不十分	<ul style="list-style-type: none"> Elution Buffer や滅菌水の pH が 7.0-8.5 であるようにする。 Elution Buffer をカラムにしっかり吸着してから遠心分離します。
	DNA 断片が 5kb より大きい	<ul style="list-style-type: none"> 60°Cに温めた Elution Buffer を使用すると、溶出効率があがります。
溶出した DNA が non-specific DNA 断片を含む	切り出し用のメスの汚染	<ul style="list-style-type: none"> 新しいもの、または洗浄したメスを用いる
	DNA が変性している (ゲル分析で小さなバンドが存在する。)	<ul style="list-style-type: none"> 溶出した DNA を 95°Cで 2 分インキュベートし、徐冷することで変性した DNA をアニーリングします。
精製したプラスミドがその後のアプリケーションで良い結果を出せない	塩が残留している	<ul style="list-style-type: none"> カラムを Wash Buffer で 2 度洗浄する。
	エタノールが残留している	<ul style="list-style-type: none"> 洗浄ステップの後、MG Column を乾燥させるとき、再度、3 分遠心分離を行ってください。

日本総代理店



〒101-0032 東京都千代田区岩本町 2-13-11 TEL: 03(3864)7701 FAX: 03(3864)7752

E-mail: technical@chiyoda-s.jp

vol.0907-2

<http://www.chiyoda-s.jp>