Micro Elute GEL Extraction Kit

Cat: FAMGK 000 (4 回分)/FAMGK 001 (50 回分)/FAMGK 001-1(200 回分)

本製品は研究用です

Vol.0907-2

キットの内容

	FAMGK 000 (4prep_sample)	FAMGK 001 (50prep)	FAMGK 001-1 (200prep)
MG Buffer	1.5ml×2	65ml	260ml
Wash Buffer(concentrated)*	1ml	12.5ml	50ml
Elution Buffer	0.5ml	5ml	5ml
MG Column	4 pcs	50pcs	200pcs
Collection Tube	4 pcs	50pcs	200pcs
添加する 96-100%エタノール量			
Wash Buffer(concentrated)*	4ml	50ml	200ml

基本情報

サンプル量	最大 200mg
回収率	80-90%
結合量	5ug
最少溶出量	10-12ul
操作時間	20 分

FAVORGEN BIOTECH CORP.

重要事項

1. 本製品を使用する際は、白衣とゴム手袋を着用してください。
2. Wash Buffer にエタノール(96-100%)を加えてください
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 までのゲルを処理できます。）
4. 遠心分離は、14,000rpm 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：ステップ 4 のためにドライバス又はウォーターバスを 55℃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。
   ＊サンプルのゲルの量を最小限にするため、余分なゲルを取り除いてください。

2. 200mg 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。
   ＊最大サンプル量は 200mg です。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処理してください。

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 600ul の MG Buffer を加えてください。
   ＊アガロース濃度 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～15 分インキュベートします。インキュベート中、3 分毎にチューブをボルテックスし混和してください。
   ＊インキュベート中にボルテックスを行うと、ゲルの溶解を促進できます。
   ＊次のステップへ進む前にゲルが完全に溶解していることを確認してください。

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。
   ＊200mg のゲルに 200ul のイソプロパノールを加えてください。

6. 600ul のサンプル溶液を MG Column へアプライし、1 分遠心分離後、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. 600ul の Wash Buffer(事前にエタノールを加えてください。)を MG Column に加えます。30 秒間遠心分離し、ろ液を捨てます。
   ＊Wash Buffer にエタノールが入っていることを確認してください。

9. 再度 1 分遠心分離し、カラムを乾かします。

重要なステップ！ 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のステップです。

10. 乾燥させた MG Column を新しい 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. 10-12ul の Elution Buffer または ddH_2O（pH7.0-8.5）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。

＊10μｌの Elution Buffer を使用した場合、平均 9μｌ溶出できます。

重要なステップ！ 効率よくDNAを溶出するために、Elution Bufferをカラム膜中央へ加え、完全に吸着させます。

重要：12ul 以下で溶出しないでください。収量が減少します。

12. 30 秒遠心分離し、精製した DNA を溶出します。

トラブルシューティング

ゲルが溶解しない	
アガロースゲル濃度が 2%以上	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	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てください。
低回収率	
サンプル量が多すぎる	1 つのカラムに 200mg 以上のサンプルを使用しないでください。
DNA の溶出ステップが正しく行われていない	Elution Buffer をカラムにしっかり吸着させるために、3 分間静置してから遠心分離してください。
DNA の溶出が不十分	Elution Buffer や ddH_2O の pH が 7.0-8.5 であることを確認してください。
DNA 断片が 5kb より大きい	60℃に温めた Elution Buffer を使用すると、溶出の効率をあがります。
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	新しいもの、または洗浄したメスを用いてください。
DNA が変性している（ゲル分析で小さなバンドが存在する。）	溶出した DNA を 95℃で 2 分インキュベートし、徐冷することで変性した DNA をアニーリングしてください。
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	カラムを Wash Buffer で 2 度洗浄してください。
エタノールが残留している	洗浄ステップの後、FADF 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。