

## Agarose Gel Extraction Kit Protocol

本キットはアガロースゲルを *Extraction Buffer* によって溶解し、結合→洗浄→溶出の手順でDNAを抽出します。使用前に96-99%のエタノールを *Washing Buffer* に記載量添加します。200bp 以下または5kbp 以上のDNAを抽出する場合、イソプロパノール(別途準備)の使用により収量を増やすことができます。オプションの洗浄ステップを行った場合、塩の混入を減少させることができますが、DNAが200bp 以下の場合、収量が減少する可能性があります。

### 1 ゲルの切り出し

#### *Excision of the gel*

- 1) 目的DNA断片を含むゲル切片を切り出します。
- 2) 滅菌した 1.5ml チューブ(グライナー616201 など)にゲル切片を入れます。

### 2 サンプル調整

#### *Sample preparation*

- 1) ゲルの3倍量の *Extraction Buffer* を加えます。例えば、100mg (約100  $\mu$ l) のゲルには300  $\mu$ l の *Extraction Buffer* を加えます。ゲルのアガロース濃度が2.5%より高い場合には6倍量の *Extraction Buffer* を加えます。
- 2) ゲルが溶解するようにとどき混和しながら、60°Cで10分間インキュベートします。
- 3) 200bp 以下または5kbp 以上のDNAを抽出する場合、ゲルと等量のイソプロパノールを加え、よく混合します。

### 3 カラム準備

#### *Column activation*

- 1) カラムを2mlのコレクションチューブにのせます。
- 2) 100  $\mu$ l の *Activation Buffer* をカラムに加えます。
- 3) 10000G、30秒間遠心します。

### 4 カラムへのローディング

#### *Column loading*

- 1) ステップ2で溶解したゲルをカラムにアプライします。
- 2) 10000G、30秒間遠心します。
- 3) 溶出液を捨てます。

### 5 オプションのカラム洗浄ステップ (DNA>200bp の場合)

#### *Optional primary washing (only for DNA>200bp)*

- 1) カラムを2mlのコレクションチューブに再度のせます。
- 2) 500  $\mu$ l の *Washing Buffer* をカラムにアプライします。
- 3) 10000G、1分間遠心し、溶出液を捨てます。

### 6 カラムの洗浄

#### *Column washing*

- 1) 500  $\mu$ l の *Washing Buffer* をカラムにアプライします。
- 2) 10000G、2分間遠心し、溶出液を捨てます。

### 7 溶出

#### *Elution*

- 1) カラムを滅菌した 1.5ml チューブ(グライナー616201 など)にセットします。
- 2) 30-50  $\mu$ l の *Elution buffer* または滅菌した蒸留水をカラムのメンブレン中央に滴下します。
- 3) 室温で1分間インキュベートします。
- 4) 10000G、1分間遠心します。溶出液には精製されたDNAが含まれます。

(株)グライナー・ジャパン

Greiner Bio-One Co., Ltd.

東京都港区赤坂2-17-44

<http://www.greiner-bio-one.co.jp>

東京本社 電話03-3505-8875(代表) FAX 8945(器材・機器) 8879(受託・試薬)

新大阪オフィス 学術本部 電話06-4805-7115(代表) FAX 7171(学術)