

Agencourt AMPure XP

クイックマニュアル



本クイックマニュアルは簡易版です。使用前には、正式なマニュアル(英文)を必ずご一読ください。

Introduction

ベックマン・コールターのスリッドフェーズ可逆的固定化 (SPRI) 磁性ビーズ技術により、PCR アンプリコンのハイスループット精製を可能にします。磁性ビーズが 100 bp 以上の DNA 断片に結合し、プライマー、ヌクレオチド単量体、塩、酵素を簡単な洗浄で除去します。

適用アプリケーション

PCR、シーケンシング、ジェノタイピング、フラグメント解析、プライマーウォーキング、クローニング

保存方法

4°Cで保存してください。

使用前に十分に攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁して下さい。

本マニュアルの対応製品

A63880 AMPure XP 5 mL

A63881 AMPure XP 60 mL

A63882 AMPure XP 450 mL

Material Supplied by the User

反応プレート/チューブ

96 ウェル PCR プレート

例: ABgene product # AB-0800; AB-2800 or AB-1400

96 ウェル 300 μ L 丸底プレート

例: Costar # 07-200-105

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルプレート

例: Product # AB-1127

1.5 ml マイクロチューブ

磁気プレート/スタンド

A32782 SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

A29182 Agencourt SPRIstand 6 Position Tube Magnet

試薬

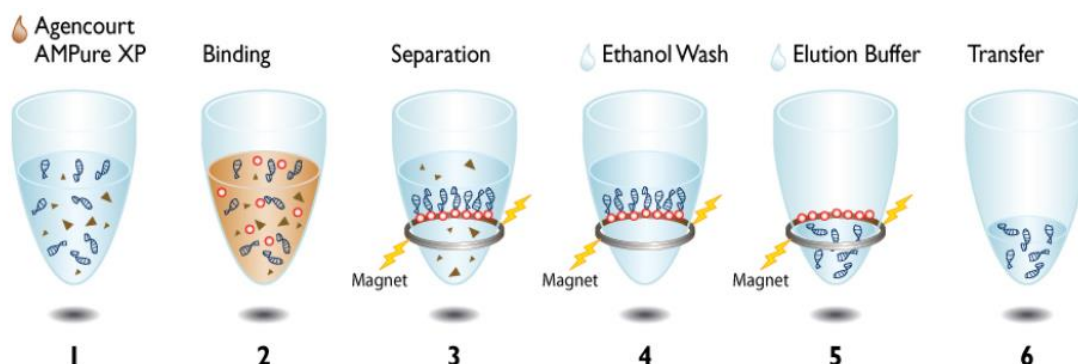
70%エタノール (用時調製)

溶出液: 滅菌水、Tris 緩衝液 (pH 8.0)、TE 緩衝液 (pH 8.0)

DNAの定量

二本鎖 DNA のみを測定対象とする、PicoGreen アッセイかアガロースゲルでの可視化定量を推奨します。260 nm の吸光度 (OD_{260}) 定量は、一本鎖と二本鎖の両方の DNA を測定対象としてしまうため、推奨しません。

Quick Reference (96 ウェル反応プレートの場合)



1. サンプル 1 μL あたり、AMPure XP 1.8 μL を加える。
2. ピペッティング 10 回で混合後に 5 分間静置し、DNA 断片を磁性ビーズに結合。
3. 磁気プレート上で 2 分間静置し、上清を除去。
4. 磁気プレート上で 70%エタノール 200 μL 以上を加え、30 秒静置し、上清を除去。
この 70%エタノール洗浄を再度繰り返す。
5. 磁気プレートから下ろし、溶出液 40 μL 以上を加え、ピペッティング 10 回で再懸濁。5 分間静置後、磁気プレート上で1分間静置。
6. 磁気プレート上で精製 DNA を含む上清を、新しいプレートに移す。

Purification Procedure

96 ウェル反応プレートでの実験手順

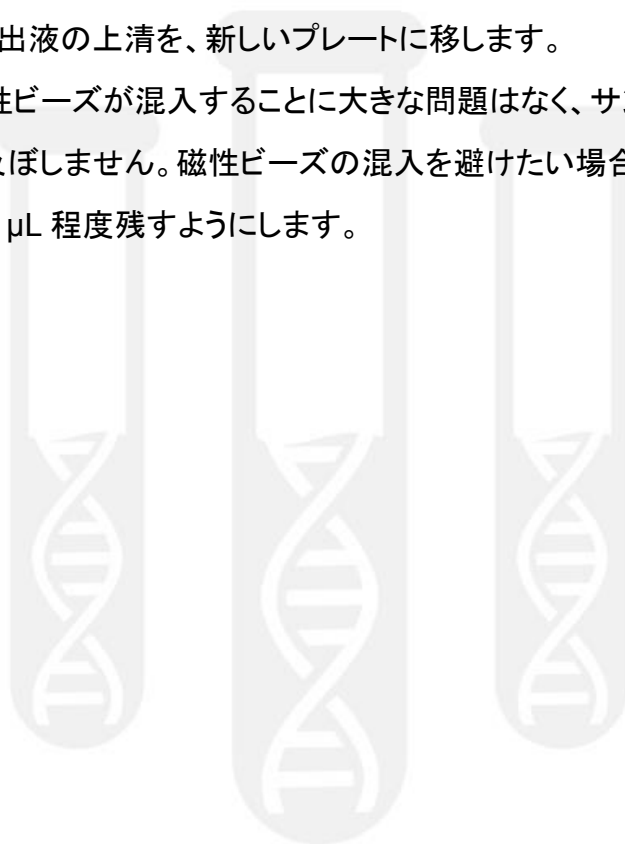
1. 反応プレートのウェル容量がサンプル液量の 2.8 倍を超えている場合、より大きなウェル容量の反応プレートに移しかえる必要があります。
2. AMPure XP のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁します。サンプル液量の 1.8 倍容の AMPure XP を加えます。

| サンプル液量 (μL) | AMPure XP 添加容量 (μL) |
|-------------|---------------------|
| 10 | 18 |
| 20 | 36 |
| 50 | 90 |
| 100 | 180 |

3. 100 bp 以上の DNA 断片を磁性ビーズへ結合させるため、ピペッティング 10 回によりサンプルと試薬を混合します。その後、回収率を高めるために室温で 5 分間静置します。
4. 反応プレートを磁気プレート上で 2 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。溶液が透明になっていることを確認してください。
5. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。このとき磁性ビーズを吸い取らないように、5 μL 程度の上清を残すようにします。
6. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで 70%エタノール 200 μL を加え、室温で 30 秒間静置します。その後、エタノールを除去します。サンプルと試薬の合計容量が 200 μL 以上の場合は、この容量以上のエタノールを加えます。
この 70%エタノール洗浄を再度行い、ウェル底のエタノールを完全に除去します。
サンプル DNA が 10 kb 以上の場合には、磁性ビーズの過度な乾燥は避けてください。DNA

収量が非常に低くなる場合があります。

7. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、ウェルに溶出液 40 μ L を加えます。ピペッティング 10 回により再懸濁し、2 分間静置します。40 μ L 以下で溶出を行う場合には、入念な再懸濁を行う必要があります。
8. 反応プレートを磁気プレート上で 1 分間静置し、溶液中のビーズを分離します。
9. 精製 DNA を含む溶出液の上清を、新しいプレートに移します。
新しいプレートに磁性ビーズが混入することに大きな問題はなく、サンプルの凍結保存や酵素反応には悪影響を及ぼしません。磁性ビーズの混入を避けたい場合には、反応プレートのウェルに溶出液を 2~5 μ L 程度残すようにします。



01-QMJ-171213

ベックマン・コールター株式会社

本社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 ☎ 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 ☎ 03-5530-2460
✉ bckkcas@beckman.com URL <http://www.beckmancoulter.co.jp>

