

CleanSEQ

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固定化 (SPRI) 磁性ビーズ技術により、わずか 3 ステップのシーケンシング反応精製を実現します。この効率的な精製法によるシーケンシング結果は、非常に高品質です。

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

A29151 CleanSEQ 8 mL

A29154 CleanSEQ 50 mL

A29161 CleanSEQ 500 mL

Material Supplied by the User

反応プレート

96 ウェル PCR プレート

例: Thermo Fisher Scientific, AB-0800 or AB-1400

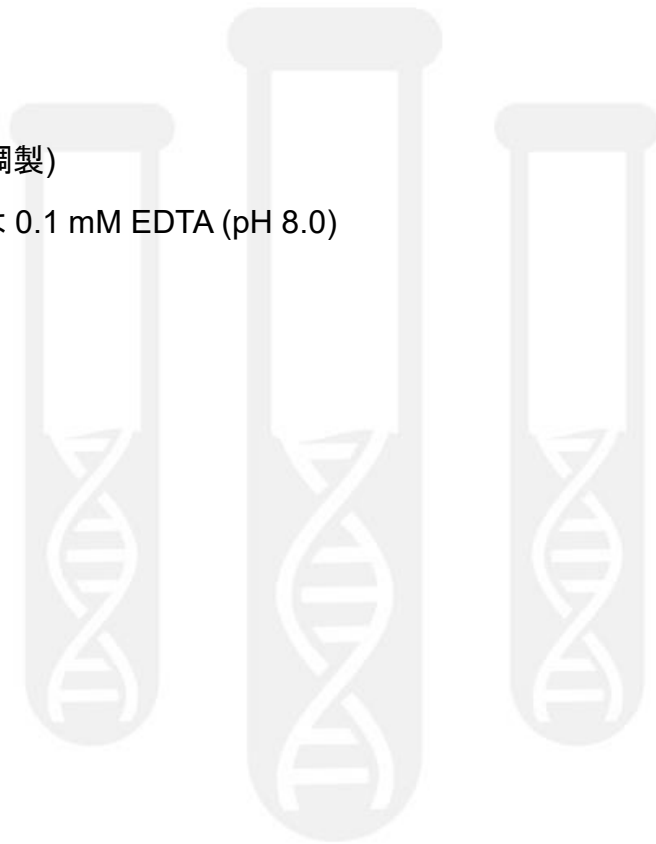
磁気プレート

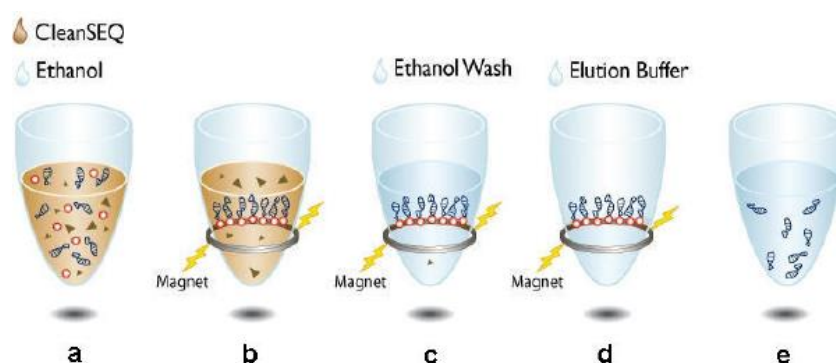
Beckman Coulter SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate, A32782

試薬

85%エタノール (用時調製)

溶出液: 滅菌水、または 0.1 mM EDTA (pH 8.0)



Quick Reference (BigDye Terminator、96 ウェル反応プレートの場合)

- a. 反応プレートに CleanSEQ 10 μL 、85%エタノールを所定量 (シーケンシング反応液量と、CleanSEQ 10 μL の合計液量の 2.077 倍容) 加え、ピペッティング 7 回により混合。
- b. 反応プレートを磁気プレート上で 3~5 分間静置した後、上清を除去。
- c. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、85%エタノール 100 μL を入れ、30 秒間以上静置し、エタノールを除去。この 85%エタノール洗浄を再度繰り返す。
- d. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、反応プレートに所定の溶出液 40 μL を加え、2~5 分間静置。その後、反応プレートを磁気プレート上で 3~5 分間静置。
- e. (省略可能) 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清 35 μL を新しいプレートに移す。

Purification Procedure

BigDye Terminator、96 ウェル反応プレートの場合の実験手順

1. CleanSEQ のボトルを十分に攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁して下さい。
2. 反応プレートに CleanSEQ 10 μL を加えます。この添加量 10 μL は、シーケンシング反応液量に影響を受けません。
3. 反応プレートに 85%エタノールを所定量（シーケンシング反応液量と、CleanSEQ 10 μL の合計液量の 2.077 倍容）加え、ピペッティング 7 回により十分に混合します。

シーケンシング反応液量 (μL)	85%エタノール添加容量 (μL)
5	31
10	42
15	52
20	62
25	73

4. 反応プレートを磁気プレート上で 3~5 分間静置し、溶液中の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。このときビーズを吸い取らないように、ビーズのリング状の沈澱の中心部にピペットを差し入れるようにします。蛍光色素などの残渣を残さぬように、上清は可能な限り除去してください。
6. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、85%エタノール 100 μL を入れ、30 秒間以上静置します。
7. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、エタノールを除去します。蛍光色素などの残渣

を残さぬように、エタノールは可能な限り除去してください。

8. ステップ 6~7 の 85%エタノール洗浄を再度繰り返してください。
9. (本ステップは省略可能) 反応プレート室温で 10 分間静置し、磁性ビーズを乾燥させます。磁性ビーズの過度な乾燥は、蛍光色素を分解する可能性があります。
10. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、下表の溶出液 40 μ L を加え、室温で 2~5 分間静置します。

シーケンシング反応のタイプ	ABI 3100/3130/ 3500/3700	ABI 3700
PCR 産物で BigDye >2 μ L 使用	0.1 mM EDTA	0.1 mM EDTA
PCR 産物で BigDye <2 μ L 使用	0.1 mM EDTA	滅菌水
プラスミドで BigDye >2 μ L 使用	0.1 mM EDTA	滅菌水
プラスミドで BigDye <2 μ L 使用	滅菌水	滅菌水

滅菌水を使用した場合はシグナル強度が最も強くなり、0.1 mM EDTA を使用した場合にはシグナル強度は抑えられます。シーケンサーの検出感度、BigDye の使用量、テンプレートの種類により、上表の通りに最適化しています。

キャピラリーシーケンシング前の、サンプルの変性処理は必要ありません。

11. 反応プレートを磁気プレート上で 3~5 分間静置し、溶液中の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。
12. (本ステップは省略可能) 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清 35 μ L 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と、シーケンサーのインジェクションに悪影響を与える場合があります。混入を避けるために、反応プレートのウェルに溶出液を 5~10 μ L 程度残す

ようにします。

13. プレートに封をして 4°C で保存し、24 時間以内にシーケンサーで解析を行うようにします。- 20°C では、約 1 ヶ月間保存することができます。



210217_QMJ_CleanSEQ

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 🌐 <http://www.beckmancoulter.co.jp>

