

SPRIselect

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リバーシブル固定化 (SPRI) 磁性ビーズ技術により、次世代シーケンシングライブラリ調製用 DNA のサイズセレクションを、短時間で簡単な処理にします。処理条件を変えることにより、希望のサイズレンジで調製することも可能です。

適用アプリケーション

次世代シーケンシングのライブラリ調製

保存方法

常温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

B23317 SPRIselect 5 mL

B23318 SPRIselect 60 mL

B23319 SPRIselect 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

85%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サンプル要件

断片化された二本鎖 DNA 50 μ L 以上が必要です。サイズセレクション可能な範囲は、150~800 bp です。

Left Side Size Selection Procedure

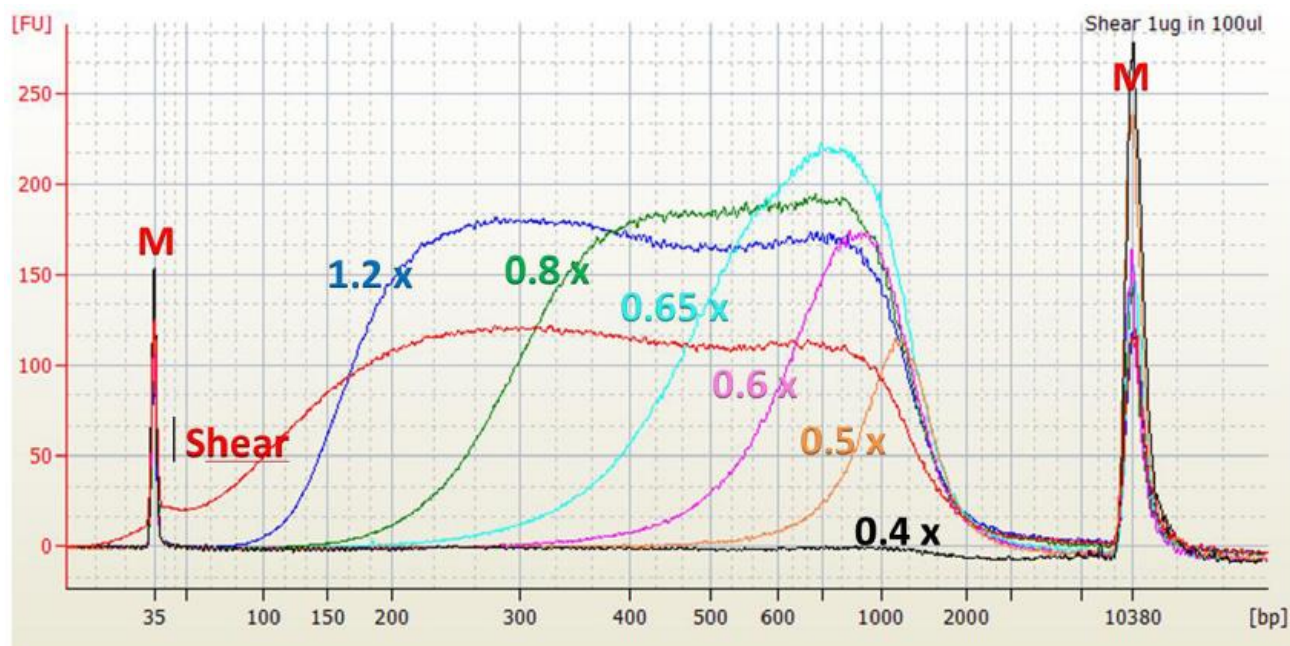


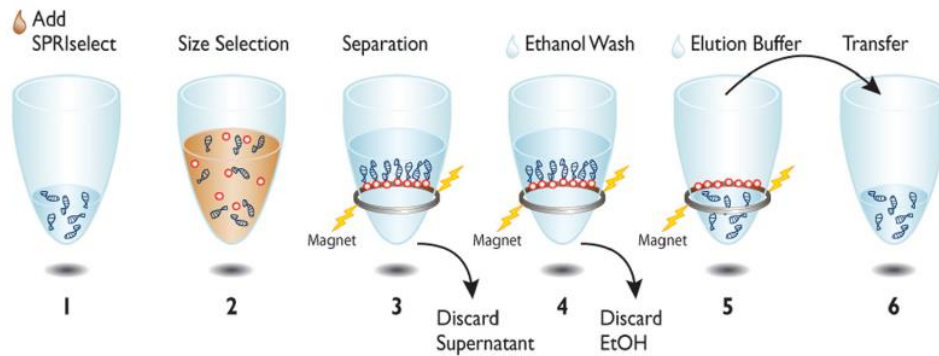
Figure 1. Agilent High Sensitivity DNA chip によるレフトサイドサイズセレクションの評価

M: マーカー

Shear: インットサンプル 20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ の 1 μL をアプライ

0.4 – 1.2 x: サイズセレクションを行った DNA 断片の 1 μL をアプライ

数値は、サンプル容量に対する添加した SPRIselect の容量比



1. SPRIselect のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁します。
サンプルに対して所定量の SPRIselect を加えます。0.8xでサイズセレクションを行う場合には、サンプル 50 μL あたり、SPRIselect 40 μL ($50 \times 0.8 = 40$) を加えます。
2. ピペティング 10 回後に 1 分間静置 (またはボルテックス 1 分間) し、DNA 断片と磁性ビーズを結合します。
3. 磁気プレート/スタンド上で溶液が透明になるまで静置し、上清を除去します。
4. 磁気プレート/スタンド上で 85%エタノール 180 μL を加え、30 秒静置後、上清を除去します。
5. 磁気プレート/スタンドから下ろし、溶出液 20 μL 以上を加えます。
ピペティング 10 回で再懸濁した後、1 分間静置 (またはボルテックス 1 分間で再懸濁) してより磁性ビーズから DNA を溶出します。
磁気プレート/スタンド上で溶液が透明になるまで静置します。
6. 磁気プレート/スタンド上でサイズセレクトされた DNA を含む上清を、新しいプレート/チューブに移します。

Right Side Size Selection Procedure

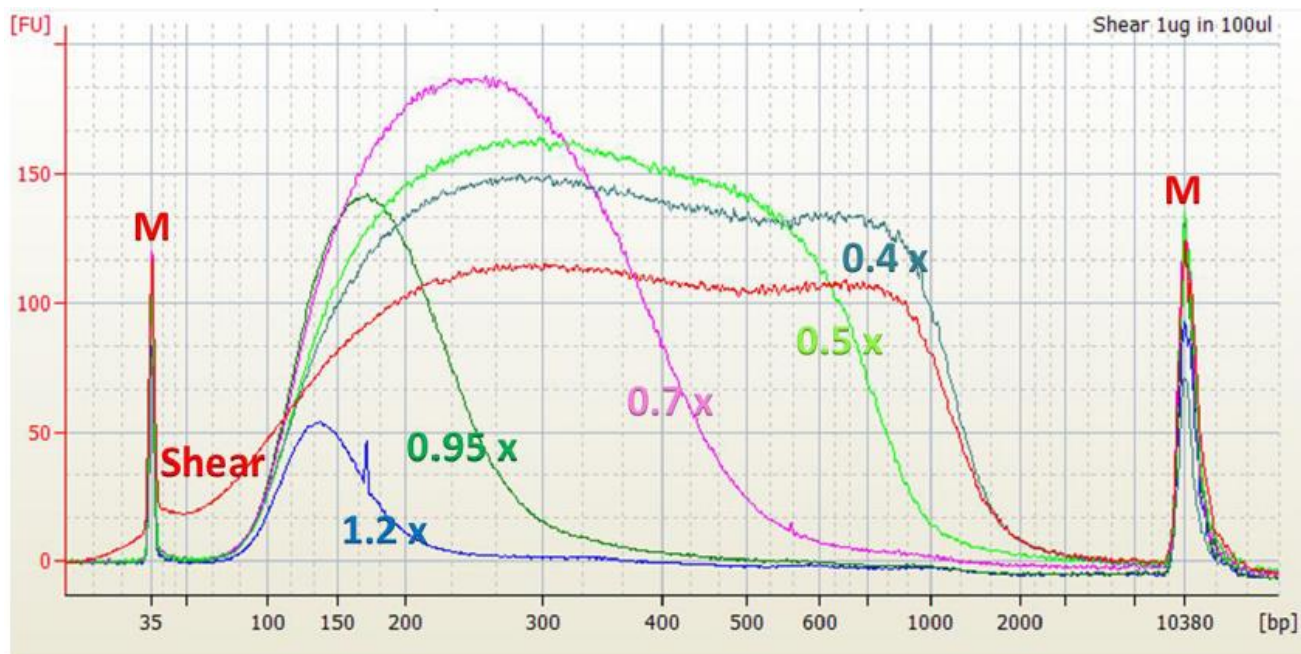


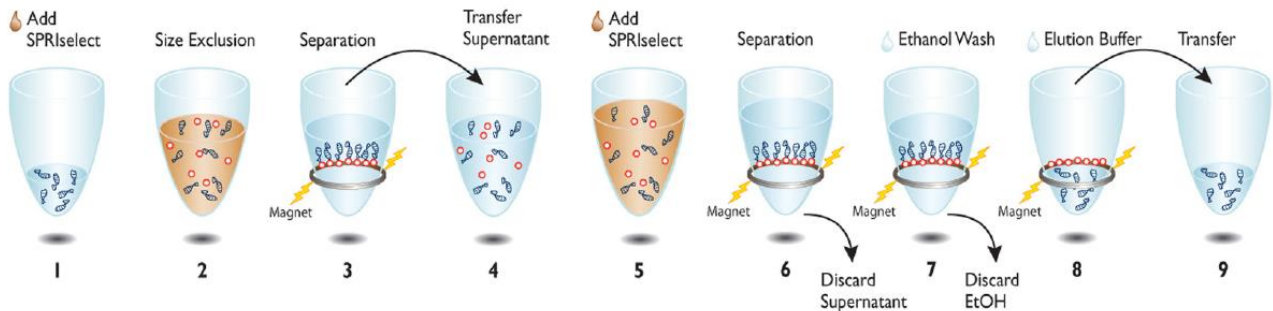
Figure 2. Agilent High Sensitivity DNA chip によるライトサイドサイズセレクションの評価

M: マーカー

Shear: インputサンプル 20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ の 1 μL をアプライ

0.4 – 1.2 x: サイズセレクションを行った DNA 断片の 1 μL をアプライ

数値は、サンプル容量に対する添加した SPRIselect の容量比



1. SPRIselect のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁します。
サンプルに対して所定量の SPRIselect を添加します。0.7×でサイズセレクションを行う場合には、サンプル 50 μ L あたり、SPRIselect 35 μ L ($50 \times 0.7 = 35$) を加えます。
2. ピペティング 10 回後に 1 分間静置 (またはボルテックス 1 分間) し、DNA 断片と磁性ビーズを結合します。
3. 磁気プレート/スタンド上で溶液が透明になるまで静置します。
4. 磁気プレート/スタンド上で上清を新しいプレート/チューブに移し、ビーズが残っているプレート/チューブは破棄します。
5. 1.8 からサイズセレクションを行っている数値を減じた倍率の SPRIselect を加えます。
0.7×でサイズセレクションを行った場合には、
サンプル 50 μ L あたり、SPRIselect 55 μ L ($50 \times (1.8 - 0.7) = 55$) を加えます。
6. ピペティング 10 回後に 1 分間静置 (またはボルテックス 1 分間) し、DNA 断片を磁性ビーズに結合します。
磁気プレート/スタンド上で 2 分間静置後、上清を除去します。
7. 磁気プレート/スタンド上で 85%エタノール 180 μ L を加え、30 秒静置後、上清を除去します。
8. 磁気プレート/スタンドから下ろし、溶出液 20 μ L 以上を加えます。

ピペティング 10 回で再懸濁後、1 分間静置 (またはボルテックス 1 分間で再懸濁) してビーズから DNA を溶出します。

磁気プレート/スタンド上で、溶液が透明になるまで静置します。

9. 磁気プレート/スタンド上でサイズセレクトされた DNA を含む上清を、新しいプレート/チューブに移します。



Double Size Selection Procedure

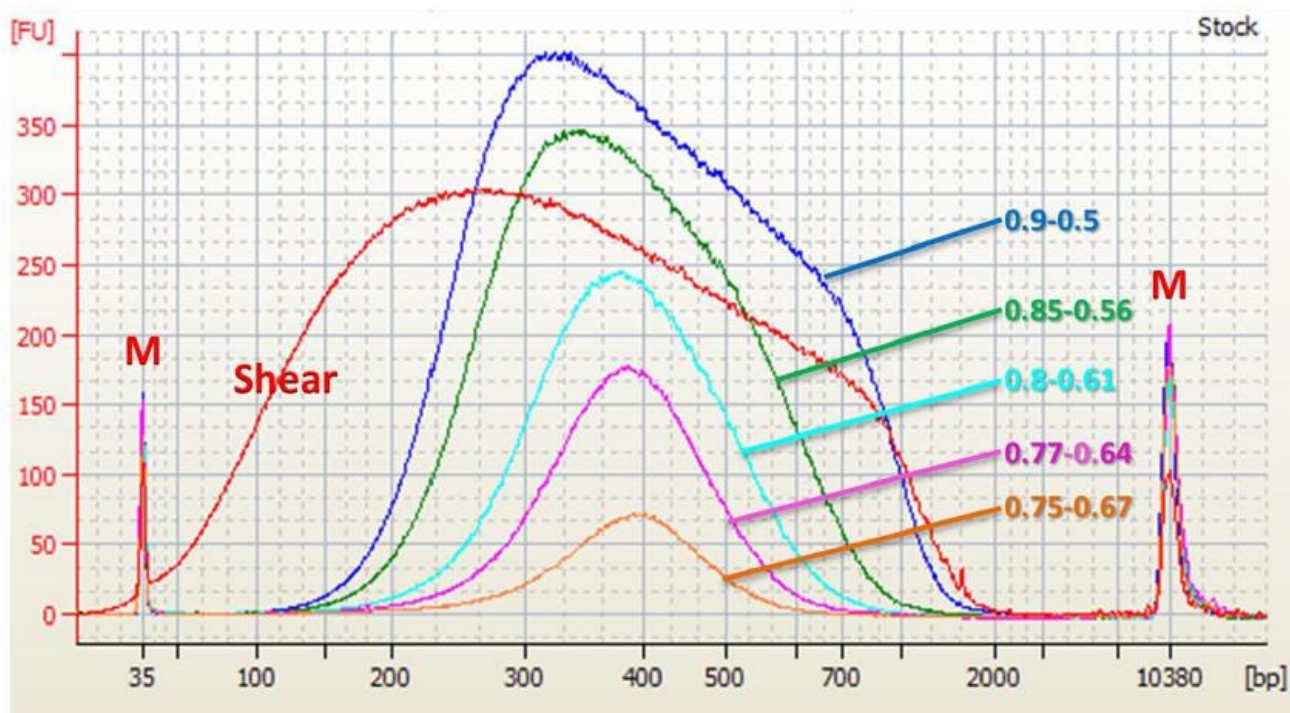


Figure 3. Agilent High Sensitivity DNA chip によるダブルサイズサイズセレクションの評価

M: マーカー

Shear: インプットサンプル 20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ の 1 μL をアプライ

数値 L – 数値 R : サイズセレクションを行った DNA 断片の 1 μL をアプライ

数値 L は、レフトサイドセレクション時にサンプル容量に対して添加した SPRIselect の容量比

数値 R は、ライトサイドセレクション時にサンプル容量に対して添加した SPRIselect の容量比

1. 所定の SPRIselect 容量比にて、レフトサイズセレクションを行います。
2. 続けて、所定の SPRIselect 容量比にて、ライトサイズセレクションを行います。



04-QMJ-180713

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>

