

## CosMCPrep 追加プロトコル トランスフェクショングレードのプラスミド抽出



本追加プロトコルは簡易版です。使用前には、正式な製品マニュアルと Supplemental Protocol (英文)を必ずご一読ください。

### Material Supplied by the User

#### 培養プレート

96 ウェル 2.2 mL ディープウェルブロックなど

例: World Wide Medical Products, PN 99181000

ガス透過性プレートシール

例: Thermo Scientific AB-0718

#### 反応プレート

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルブロックなど 例: Thermo, PN AB-1127

#### 磁気プレート

A32782 Agencourt SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

#### 保存プレート

96 ウェル 300  $\mu$ L 丸底プレートなど 例: Costar, PN 07-200-105

#### 試薬

大腸菌用の培地

RNase A

100%イソプロパノール

70%エタノール (エンドトキシンフリー水で用時調製)

エンドトキシンフリー水

## Purification Procedure

1. 2.2 mL ウェルサイズの培養プレートに、1.7 mL の培地を入れます。
2. 培養プレートに、プラスミドを持つ大腸菌のシングルコロニーを植菌します。
3. 培養プレートをガス透過性プレートシールで封をし、37°C、300 rpm で、BAC の場合は 19 時間、高コピープラスミドの場合は 17.5 時間振盪培養します。
4. 培養終了後、培養プレートを 2,500 ×g で 10 分間遠心分離します。
5. ガス透過性プレートシールを剥がし、培養プレートの培地（上清）をデカンテーションにより除去します。さらに培地を除去するために、培養プレートをペーパータオルの上に伏せて置きます。
6. このステップを行う前に、添加する RE1 Solution に 100 ng/μL となるように RNase A を加えます。培養プレートに RE1 Solution 100 μL を加えます。ボルテックス、振盪、またはピペッティングにより菌体を完全に再懸濁し、5 分間静置します。
7. 培養プレートに L2 Solution 100 μL を加えます。穏やかに混合し、5 分間静置します。
8. 培養プレートに N3 Solution 100 μL を加えます。シェーカーで 10 分間振盪し、サンプルを中和します。  
プレートにシールをします。
9. 培養プレートを 4,700 ×g で 20 分間遠心分離します。
10. 培養プレートの上清のうち 200 μL を、反応プレートに移します。  
このときに、チップに沈殿物や不溶物が付かないようにしてください。分離が不十分な場合には、追加で 5~10 分間遠心分離を行ってください。

11. 反応プレートに PUR4 Solution 10  $\mu$ L と 100%イソプロパノール 140  $\mu$ L を加えます。ピペッティング 10 回により懸濁します。
12. 反応プレートを磁気プレート上で 15 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。
13. 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。
14. 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  $\mu$ L 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。この 70%エタノール洗浄を引き続き 2 回、合計 3 回行います。  
70%エタノールは、非変性エタノールとエンドトキシンフリー水から用事調製してください。
15. エタノールを除去した反応プレートを、5 分間乾燥してください。
16. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、エンドトキシンフリー水 40  $\mu$ L を加え再懸濁し、37°C で 5 分間反応します。  
反応プレートを磁気プレート上で 1~3 分間静置し、精製 DNA を含む上清を新しい保存プレートに移します。



210217\_SP-JP\_CosMCPrep\_Transfection

## 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](mailto:bckkcas@beckman.com) 🌐 <http://www.beckmancoulter.co.jp>

