



Nucleic Acid Purification Kit

MagExtractor™ -Plasmid-

([Code No. NPK-301](#))

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD.
Bioproducts Sales and Marketing Department
OSAKA JAPAN

TOYOBO

- 目次 -

[1] はじめに	(1)
[2] ご使用になる前に	(1)
[3] キットに含まれるもの	(2)
[4] プロトコール	(2)
1. キットの他に必要なもの	(2)
(1) 試薬	(2)
(2) 器具・機材	(2)
2. 抽出フロー	(3)
3. 宿主菌の培養	(3)
4. 集菌	(4)
5. 試薬の調製	(5)
6. MFX-2000/2100 で plasmid DNA を抽出する方法	(5)
(1) プロトコールの選択	(5)
(2) 加温ブロック、回収ブロックの温度設定	(6)
(3) 専用フィルター付きチップのセット	(6)
(4) 専用チューブのセット	(7)
(5) 試薬のセット	(8)
(6) サンプルの前処理及びセット	(10)
(7) 抽出開始	(11)
(8) サンプルの回収	(11)
(9) マニュアルで plasmid DNA を抽出する方法	(12)
[5] 一般的なサンプルの分析	(13)
(1) A260、A280、A320 の測定	(13)
(2) 電気泳動	(13)
(3) DNA sequencing	(13)
[6] トラブルシューティング	(14)
1. MFX-2000/2100 を使用する場合	(14)
2. マニュアル法の場合	(14)
[7] 関連商品	(15)

ご注意)

本キットに含まれる試薬はすべて研究用試薬です。診断・臨床用試薬として決して使用しないでください。本キットの使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意して下さい。

[1]はじめに

MagExtractor™ -Plasmid-はカオトロピック剤の存在下で核酸がシリカ表面に吸着することを利用してplasmid DNAの抽出・精製を行います。磁性体が封入された磁性ビーズを使用していますので、永久磁石を用いて核酸を簡単に分離回収することができます。この磁性ビーズは吸着条件によって、蛋白質、DNA、RNAに対する吸着能が異なるため、シンプルな操作で目的とする核酸を精製することができます。本キットは、全自動核酸抽出装置MFX-2000/2100用の試薬として用いる以外に、マニュアル抽出のキットとしてもご利用になれます。

性能・特長

- ・ 大腸菌からplasmid DNAを抽出・精製することができます。
- ・ 3～6μgのplasmid DNA (50～150ng/μL)を回収^{*1}でき、形質転換、制限酵素処理、DNA sequencing反応にご使用になれます。
- ・ 10～15min.でplasmid DNAを抽出できます。
- ・ フェノール・クロロホルムなどの危険な溶媒は一切使用しません。
- ・ エタノール沈殿を必要としません。

[2]ご使用になる前に

(1) ご注意

MagExtractor™ -Plasmid-にはMFX-2000/2100用に4種、マニュアル用に2種のプロトコールが用意されています。磁性ビーズを乾燥しないプロトコール(マニュアル用プロトコール I およびMFX-2000/2100の“Speedy”や“Lowcost”プロトコール)で得られた回収液については、以下の点にご注意ください。

- ・ 制限酵素処理、形質転換にはそのままご使用になれます。
- ・ アガロース電気泳動時のLoading Dyeは、必ずキット添付のものをお使いください。通常の組成ではウェルにサンプルを沈めることができない場合があります。
- ・ DNA sequencing用の鋳型としてご使用になる場合は、エタノールがsequencing反応を阻害しますので、回収液を1.5mLチューブに入れ蓋を開けた状態で78℃で40min.間加熱してください(必要量だけ加熱処理することもできます。13ページをご覧ください)。
- ・ 回収液へエタノールを持ち込まないためには、マニュアル用プロトコール II (12～13ページ参照)、MFX-2000/2100の場合は“Dryup”や“Fullauto”プロトコールを使用してください。

^{*1} JM109/pUC19の終夜培養液(5～8 O.D.)から抽出した場合

[3] キットに含まれるもの

このキットにはplasmid DNAを500回抽出できる試薬が含まれています。

130mL x2	吸着液(タンパク質変性剤含有).....	4℃または室温保存
16mL	磁性ビーズ I	4℃または室温保存
16mL	磁性ビーズ II	4℃または室温保存
80mL	再懸濁液	4℃保存
80mL	溶解液 I (タンパク質変性剤含有)	4℃または室温保存
20mL	溶解液 II (タンパク質変性剤含有)	4℃保存
65mL	中和液	4℃または室温保存
60mL	溶出液	4℃保存
11mL	5x Loading Dye	4℃保存

- ・ 取扱いには十分注意し、手袋を着用するなどの防護措置を講じてください。万一、試薬が手などの皮膚や衣服に付着した場合には、十分に水洗を行い、目に入った場合には、十分に水洗した後、医師の手当を受けてください。
- ・ 吸着液には、高濃度のタンパク質変性剤(グアニジン塩酸塩)が含まれています。10%を超える高濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液などの酸化作用のある物質と混合した場合、有毒ガスが発生する可能性がありますので、混合しないでください。
- ・ 溶解液 I は析出物が発生する場合があります。室温～40℃で完全に溶解してからご使用ください。
- ・ 溶解液I, II の混合液は室温にて保存し、3週間以上経過したものは使用しないでください*1。溶解液I, II の混合液以外の試薬は4℃にて保存してください。
- ・ 弊社の核酸自動抽出装置MFX-2000/2100でご使用になる場合は、指定されたボトルに必要量を分注し、決められた場所にセットしてください。詳しくはMFX-2000/2100の取扱い説明書をご覧ください。

[4] プロトコール

1. キットの他に必要なもの

(1) 試薬

- ・ 滅菌水(蒸留水またはミリQ水をオートクレーブ滅菌したもの)
- ・ エタノール(99.5%以上の特級品、マニュアル法の場合は70%エタノール)

(2) 器具・機材

- ・ マイクロピペット
- ・ マイクロピペット用チップ

MFX-2000/2100をご使用になる場合は以下のものが必要になります。

- ・ 抽出専用チューブ(Code No.: MFX-301)

*1 plasmid DNAの収量や純度が低下する場合があります。

- ・ 抽出専用6連チューブ (Code No.: MFX-302)
- ・ 専用フィルター付きチップ (Code No.: MFX-402A)
- ・ 試薬セット用チューブ (50mL用, 15mL用, 2mL用^{*1})

マニュアル法でご使用になる場合は以下のものが必要になります。

- ・ 1.5mLマイクロチューブ用磁気スタンド (市販のもの)
- ・ ボルテックスミキサーまたはマイクロチューブミキサー
- ・ 簡易卓上遠心機 (12,000r.p.m.)

2. 抽出フロー

MagExtractorTM-Plasmid-は以下の5つの工程によってplasmid DNAを抽出、精製します。

- ① 集菌
- ② アルカリ溶菌
- ③ 中和
- ④ 磁性ビーズ I による菌体残渣の除去
- ⑤ 磁性ビーズ II によるplasmid DNAの分離、精製

MagExtractorTM-Plasmid-とMFX-2000/2100を用いることで上記の②～⑤を自動化することができます。

3. 宿主菌の培養

plasmid DNAを保持する大腸菌を培養します。培地はLB、TBなどアルカリ SDS法など一般的な方法でplasmid DNAを抽出する場合と同じものを使用することができます。plasmidの収量はコピー数と菌体量の影響を受けますので、MagExtractorTM-Plasmid-ではより安定した収量が得られるMMI培地での培養をお勧めします。MMI培地を用いた場合、菌体量はTBと同等 (JM109/pUC18, 50µg/mL アンピシリンで9～11 O.D.)です。

MMI培地の調製方法

- | ← 蒸留水800mL
- | ← 13g Bacto trypton
- | ← 25g Bacto yeast extract
- | ← 8.5g 塩化ナトリウム
- | ← 4mL グリセロール
- | ← 20mL 1M Tris-HCl, pH7.2
- | 蒸留水で1000mLにする
- | オートクレーブする

^{*1} 50mL, 15mLチューブはBECTON DICKINSON社のBLUE MAX 352070, BLUE MAX352096を、2mLチューブはアシスト社製No.72.693またはNo.72.694をお使いください。

4. 集菌

MagExtractor™-Plasmidで処理できる菌体量はマニュアル抽出で12～13 O.D., MFX-2000/2100を用いる場合で5～9 O.D.です。菌体量と抽出方法による収量の違いを図1に示します。MFX-2000/2100で10 O.D.以上処理されると十分な攪拌(ピペッティング)ができず収量や純度が低下する場合がありますのでご注意ください。アングルローターを用いて1.5mLチューブに集菌した場合の菌体量は図2を目安にしてください。

- ・ 培養液を1.5mLチューブに移してください。
- ・ 12,000rpmで2min.間遠心分離を行ってください。
- ・ 上清をていねいに取り除いてください。

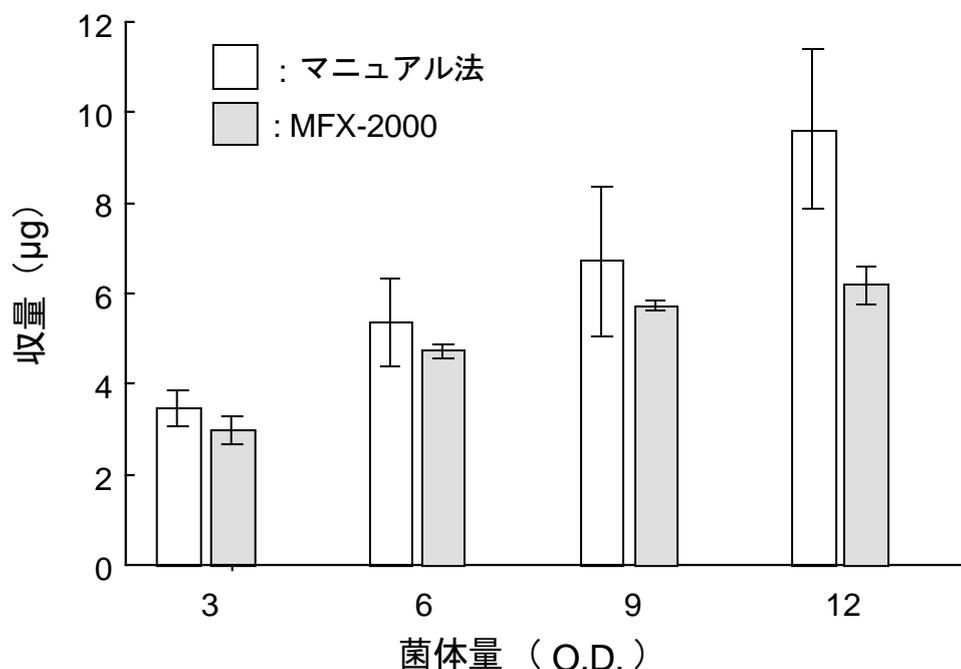


図1: 菌体量による収量の変化 (JM109/pUC18, MMI培養液)

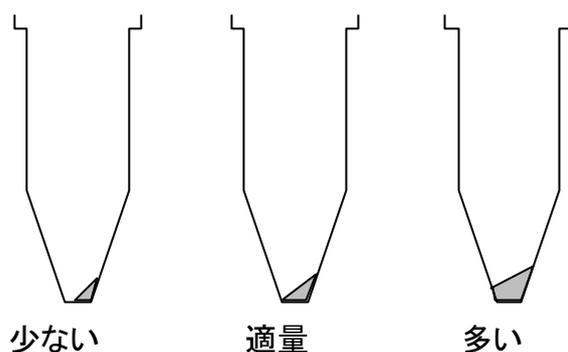


図2: 菌体量の目安

5. 試薬の調製

・ 溶解液

キット添付の溶解液 I *¹, II を4:1(v:v)の割合で混合してください。この混合液は室温にて保存し、3週間以上経過したものは使用しないでください*²。マニュアル抽出の場合は150μL/サンプル必要になります。MFX-2000/2100をご使用になる場合は9ページの表【各試薬の分注量の目安】を参考に調製してください。

・ 70% エタノール

マニュアル法でのみ必要です。1500μL/サンプル必要になります。

6. MFX-2000/2100でplasmid DNAを抽出する方法

MFX-2000/2100をご使用になる前には、MFX-2000/2100の取扱い説明書を必ずお読みください。内蔵される抽出プログラムのうち“Dryup”や“Fullauto”プログラムをご使用になる場合、加温機能が必要となります*³。標準仕様(加温、簡易保冷 機能/Code No.: MFX-102)または特別仕様(加温、電子冷却機能/Code No.: MFX-103)をお使いください。

(1) プロトコールの選択

MFX-2000/2100にはplasmid DNA抽出用プロトコールとして以下の4つが用意されています。いずれかを選択し、液晶画面に番号を入力してください。

- ・ 1回の運転では1つのプロトコールのみ選択可能です。
- ・ 下表の抽出時間に試薬分注時間は含まれていません。実際の抽出時間はサンプル 数によって異なりますが、下表の抽出時間×サンプル数×1.25(時間)を目安にしてください。

番号	液晶パネルの3行目に 表示される内容	サンプル	抽出時間	用途* ¹⁾	
				A	B
31	[Plasmid: Speedy]	再懸濁液	10min.	○	△* ²⁾
32	[Plasmid: Dryup]	再懸濁液	15min.	○	○
33	[Plasmid: Fullauto]	集菌した菌体	16min.	○	○
34	[Plasmid: Lowcost]	菌体抽出液	6min.	○	△

*¹⁾ 用途 A : 制限酵素処理, 形質転換用

用途 B : DNA sequencing, または回収液を50%以上持ち込む反応

*²⁾ エタノール除去操作をマニュアルで行うことでDNA sequencingが可能

*¹⁾ 析出物が発生した場合は、室温～40℃で完全に溶解してからご使用ください。

*²⁾ plasmid DNAの収量や純度が低下する場合があります。

*³⁾ “Speedy”や“Lowcost”プロトコールのみご使用であれば基本仕様のMFX-2000/2100 (簡易保冷機能/ Code No.: MFX-101)もご利用になれます。

- ・ プロトコール“31:Speedy”
制限酵素処理や形質転換用 plasmid DNA の調製に適しています。再懸濁液を MFX-2000/2100 にセットし、約 10min./サンプルで plasmid を抽出します。
- ・ プロトコール“32:Dryup”, “33:Fullauto”
DNA sequencing 用 plasmid DNA の調製に適しています。比較的多めの菌体 (7~9 O.D.) の処理には再懸濁液をセットする“32:Dryup”、比較的に少なめの菌体 (5~6 O.D.) の場合は集菌した菌体をセットできる“33:Fullauto”が適しています。
- ・ プロトコール“34:Lowcost”
以下の操作で処理したサンプルをセットします。専用チップを 1本/サンプル (他のプロトコールは 3~4本) のみ使用しますので、低コストで plasmid DNA を回収できます。6min./サンプルで制限酵素処理や形質転換用の plasmid DNA の調製が行えます。

集菌した菌体

- | ← 150μL 再懸濁液
 - | ボルテックスで 60sec. 攪拌
 - | ← 150μL 溶解液 (溶解液 I, II を 4:1 (v:v) の割合で混合したもの)
 - | 5回チューブを転倒して攪拌
 - | 氷上、5min. 放置
 - | ← 120μL 中和液
 - | 5回チューブを転倒して攪拌
 - | 氷上、5min. 放置
 - | 12,000rpm、10min.
- MFX-2000/2100 にセット

(2) 加温ブロック, 回収ブロックの温度設定*1

	加温ブロック*	冷却ブロック*
設定温度*	78°C*	10°C*

- ・ 簡易冷却の場合、ブロックを冷蔵庫もしくは冷凍庫であらかじめ冷やしておきます。

(3) 専用フィルター付きチップのセット

- ・ チップは専用のフィルター付きチップ (Code No.: MFX-402A) をご使用ください。
- ・ チップはガンマー線滅菌されております。必要な数の専用チップをチップラックに手袋を着用してセットします。
- ・ チップのセット位置は MFX-2000/2100 の取扱い説明書をお読みください。

*1 設定方法は MFX-2000/2100 の取扱い説明書をお読みください。

- ・ 必要な数の専用チップをチップラックにセットします。

		チップ本数						チップ本数			
プロトコール番号		31	32	33	34	プロトコール番号		31	32	33	34
サ ン プ ル 数	1	10	11	11	5	サ ン プ ル 数	13	61	74	74	26
	2	13	15	15	6		14	64	78	78	27
	3	16	19	19	7		15	67	82	82	28
	4	19	23	23	8		16	70	86	86	29
	5	27	32	32	12		17	78	95	95	33
	6	30	36	36	13		18	81	99	99	34
	7	33	40	40	14		19	84	103	103	35
	8	36	44	44	15		20	87	107	107	36
	9	44	53	53	19		21	95	116	116	40
	10	47	57	57	20		22	98	120	120	41
	11	50	61	61	21		23	101	124	124	42
	12	53	65	65	22		24	104	128	128	43

(4) 専用チューブのセット

- ・ 専用チューブを抽出ラックにセットしてください。セット位置はプロトコールによって異なりますので下表に従い、チューブをセットしてください。

プロトコール番号 [↙]	セットする場所 [↙]
31~33 [↙]	A, B, C, D, E, F
34 [↙]	A, B, C, D [↙]

- ・ 加温ブロック(プロトコール32, 33のみ)、回収ブロックに検体数分セットしてください。
- ・ 抽出ラックのA ~ F、加温ブロックには専用チューブ以外は使用しないでください。トラブルの原因となることがあります。
- ・ 回収ブロックには、MFX-2000/2100専用チューブ(Code No. MFX-301)または1.5mLスクリーキャップ式チューブ(アシスト社No.72.692など)を使用してください*¹。

*¹ 回収液に磁性ビーズが数%程度残ることがありますので、回収液を50%以上持ち込む場合は12,000rpmで2min.遠心して上澄を使用してください。(回収液を50%以上反応液中に持ち込まなければ問題はありません)。

(5) 試薬のセット

- ・ 滅菌水とエタノール(99.5%以上の特級品)は本キットに含まれていませんのでご用意ください。
- ・ 50mL容量チューブFALCON352070、15mL容量チューブFALCON352096、2mL容量チューブアシストチューブNo.72.694をご用意ください*¹。
- ・ サンプル数に応じて必要な試薬量が異なります。9ページの表に従い、必要な試薬を必要量指定されたチューブに分注してください。
- ・ 試薬の分注は試薬チューブの横の目盛りを目安に行います。
- ・ プロトコールによってはセット不要の試薬もあります。
- ・ 各チューブを試薬ラックの所定の位置にセットします。磁性ビーズ I, II はあらかじめよく振ってから試薬ラックにセットしてください。磁性ビーズのセット後は、速やかに(10min. 以内に)装置を作動させてください(収量のバラツキや動作上の障害が生じる原因となります)。
- ・ 抽出後残った試薬は再びお使い頂けます(減少した量を追加してMFX-2000/2100にセットできます)。連続してご使用にならない場合は蓋をして保存してください。解放したまま長時間放置すると液組成が変化する可能性があります。
- ・ 9ページの表に記載している規定量を越える量をセットしないでください。ノズルの汚染や液ダレの原因になります。

*¹ その他のものを使用されると機器動作に支障をきたす場合があります。

【サンプル数が1～12の場合の試薬の分注量】

試薬名	チューブ 容量	分注量 (mL)				セ ッ ト 位置
		プロトコール番号				
		31	32	33	34	
吸着液	50mL	25	25	25	25	1
滅菌水	50mL	25	25	25	25	2
エタノール	50mL	25	25	25	25	6
磁性ビーズ I	2mL	1.5	1.5	1.5	不要	7
磁性ビーズ II	2mL	1.5	1.5	1.5	1.5	8
再懸濁液	15mL	不要	不要	5	不要	9
溶解液	15mL	5	5	5	不要	10
中和液	15mL	5	5	5	不要	11
溶出液	15mL	5	5	5	5	12

【サンプル数が13～24の場合の試薬の分注量】

試薬名	チューブ 容量	分注量 (mL)				セ ッ ト 位置
		プロトコール番号				
		31	32	33	34	
吸着液	50mL	25	25	25	25	1
滅菌水	50mL	25	25	25	25	2
エタノール	50mL	50	50	50	50	6
磁性ビーズ I	2mL	1.5	1.5	1.5	不要	7
磁性ビーズ II	2mL	1.5	1.5	1.5	1.5	8
再懸濁液	15mL	不要	不要	5	不要	9
溶解液	15mL	5	5	5	不要	10
中和液	15mL	5	5	5	不要	11
溶出液	15mL	5	5	5	5	12

(6) サンプルの前処理及びセット

プロトコールによって以下のサンプルの前処理が必要になります。

①プロトコール31, 32の場合

集菌した菌体

- | ← 150μL 再懸濁液
- | ボルテックスで60sec.攪拌

サンプルホールにセット

②プロトコール33の場合

- ・ 集菌した菌体をそのままサンプルホールにセットしてください。

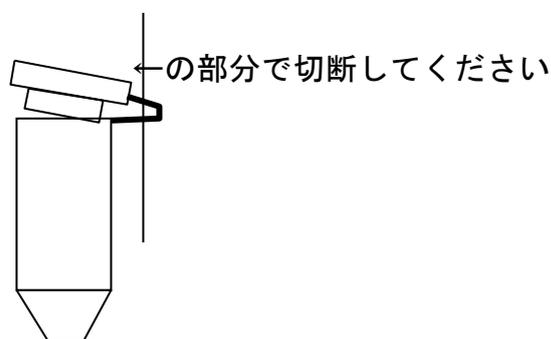
③プロトコール34の場合

集菌した菌体

- | ← 150μL 再懸濁液
- | ボルテックスで60sec.攪拌
- | ← 150μL 溶解液(溶解液 I, II を4:1 (v:v) の割合で混合したもの)
- | 5回チューブを転倒して攪拌
- | 氷上、5min.放置
- | ← 120μL 中和液
- | 5回チューブを転倒して攪拌
- | 氷上、5min.放置
- | 12,000rpm、10min.

サンプルホールにセット^{*1}

- ・ サンプルホールにサンプルをチューブのキャップをはずした状態でセットしてください (1~24までの番号が各ホールの手前にナンバリングされています)。
- ・ サンプルチューブとして通常の1.5mLチューブを使われる場合は、キャップの部分をはさみ等で切断し、セットしてください。切断の際はくれぐれも安全にご注意ください。



^{*1} 菌体残渣がチューブ壁面に集まっている場合は、チューブをそのままセットできます。ローターによっては菌体残渣がチューブの底に集まる場合がありますので、その場合は上澄みを別チューブに移した後、セットしてください。

(7) 抽出開始

- ・ サンプル、試薬チューブ（試薬量）、チューブ類、専用チップが説明書通りにセットされていることを確認します。
- ・ 抽出前にチップ廃棄ボックスを空にしてください。
- ・ 各ラックのセット位置を確認して（ロックして）、ステージが完全に奥まで収納されていることを確認し、前面扉を閉めてください。
- ・ 液晶画面にプロトコール番号、サンプル数を入力します。
- ・ “スタートキーヲオシテクダサイ”と画面に表示されていることを確認して“START”キーを押してください。
- ・ 抽出操作が始まると液晶画面に“ドウサチュウ”と表示されます。
- ・ 駆動部に手などを挟まれる危険性がありますので、動作中は前面扉を絶対に開けないでください。

(8) サンプルの回収

- ・ すべての抽出操作が終わると再び“スタートキーヲオシテクダサイ”と表示されます。
- ・ 抽出されたDNAは回収ブロック上のチューブに回収されます。装置が完全に停止していることを確認した後、回収ブロックよりチューブを取り出し、使用するまで氷上または低温（4～10℃）にて保存してください。
- ・ 回収液中に微量の磁性ビーズが混入することがありますが、そのまま使用しても差し支えありません。
- ・ 加温ブロック上のチューブを取り出すときは、加温ブロックのスイッチを切り40℃以下になっていることを確認してください。ブロックが熱いまま取り出すとやけどをすることがあります。

(9) マニュアルで plasmid DNA を抽出する方法

① プロトコール I (制限酵素処理, 形質転換グレード)

集菌した菌体

- | ← 150 μ L 再懸濁液
- | ボルテックスで60sec. 攪拌
- | ← 150 μ L 溶解液 (溶解液 I, II を4:1 (v:v) の割合で混合したもの)
- | 5回チューブを転倒して攪拌
- | 氷上、5min. 放置
- | ← 120 μ L 中和液
- | 5回チューブを転倒して攪拌
- | 氷上、5min. 放置
- | 12,000rpm、5min.
- | 上清を新しい1.5mLチューブに移す
- | ← 500 μ L 吸着液
- | ← 30 μ L 磁性ビーズ II (転倒攪拌して均一混和したもの)
- | 60sec. 攪拌^{*1}
- | B/F分離^{*2}
- | ← 720 μ L 70%エタノール
- | 30sec. 攪拌
- | B/F分離
- | ← 50 μ L 溶出液
- | 60sec. 攪拌
- | 12,000rpm、5min.
- | B/F分離 上

2回繰り返す

清

② プロトコール II (DNA sequencingグレード)

集菌した菌体

- | ← 150 μ L 再懸濁液
- | ボルテックスで60sec. 攪拌
- | ← 150 μ L 溶解液 (溶解液 I, II を4:1 (v:v) の割合で混合したもの)
- | 5回チューブを転倒して攪拌
- | 氷上、5min. 放置
- | ← 120 μ L 中和液
- | 5回チューブを転倒して攪拌

*1 攪拌強度を最大にしたボルテックスミキサーやチューブミキサーなどで室温で攪拌してください。

*2 チューブを磁気スタンドにセットし磁性ビーズを磁石に寄せ、さらに何度か転倒混和することにより蓋についた磁性ビーズを完全に磁石に寄せます。続いて、磁気スタンドごと軽く振り、蓋についた溶液を落とします。ピペットにて上清をとり除きます。

| 氷上、5min.放置
 | 12,000rpm、5min.
 | 上清を新しい1.5mLチューブに移す
 | ← 500μL 吸着液
 | ← 30μL 磁性ビーズⅡ（転倒攪拌して均一混和したもの）
 | 60sec.攪拌
 | B/F分離
 | ← 720μL 70%エタノール
 | 30sec.攪拌
 | B/F分離
 | ← 500μL エタノール
 | 30sec.攪拌
 | B/F分離
 | 78°C、15min.(磁性ビーズを乾燥させる)
 | ← 50μL 溶出液
 | 60sec.攪拌
 | 12,000rpm、5min.
 | B/F分
 離 上清

} 2回繰り返す

[5] 一般的なサンプルの分析

(1) A260, A280, A320の測定

- ・ 回収液をスピンドウンしてから測定してください。
- ・ TE緩衝液で10～30倍希釈で測定してください。

(2) 電気泳動

- ・ 5x Loading Dye: サンプル: 泳動用緩衝液 = 2:3:5～2:7:1で希釈します。

(3) DNA sequencing

- ・ プロトコール32, 33で抽出したDNAやマニュアルプロトコールⅡで抽出したDNAを5～10μL反応に使用してください。
- ・ プロトコール31, 34で抽出したDNAやマニュアルプロトコールⅠで抽出したDNAには10%程度のエタノールが含まれシーケンシング反応を阻害しますので、エタノールを除去してください。
 - ・ サンプルを0.5mLチューブに15μL分注します。
 - ・ 78°Cで液がなくなるまで(約15min.間)加温し、このチューブで反応液を混合します。

[6]トラブルシューティング

1. MFX-2000/2100を使用する場合

(1) plasmid DNAの収量が少ない・純度が悪い

原因	対策
試薬量が不足している。	C, D, Eホールにはそれぞれ800, 720, 720 μ L前後の試薬がB/F分離を行った後に残ります。この液量が少なければ、セットする試薬の量が不足していますので、規定量をセットしてください。回収液が少なすぎたり、無い場合は溶出液が少ない、セットされていないことが考えられます。
サンプル量が多すぎる。	A, Bホールの抽出チューブに50 μ L以上の液が残っている場合、菌体量が多すぎて専用チップでピペティングできなかったことが考えられます。9 O.D.以下の菌体を処理してください。

2. マニュアル法の場合

(1) plasmid DNAの収量が少ない

原因	対策
磁性ビーズⅡの使用量が少ない。	磁性ビーズⅡを規定量使用してください。
吸着液の使用量が少ない。	吸着液を規定量使用する。
70%以下のエタノールの濃度で磁性ビーズが洗浄されている、または洗浄時間が長すぎる。	70%エタノールで洗浄してください。1min.以上洗浄しないでください。
溶出液量が少ない。	50 μ L以上の溶出液で溶出してください。
plasmid DNAのコピー数が少ない。	マニュアルの場合は抽出スケールを増加してください。菌体量、試薬の使用量を2倍量にまで増加させることができます。ただし溶出液量も増えますので、回収濃度は上がりません。

(2) plasmid DNAの純度が悪い

原因	対策
菌体の溶解、残渣の凝集工程がうまくいっていない。	溶解工程の時間、溶解液量を規定量に合わせてください。この工程での純度が低いと吸着・洗浄時に磁性ビーズが分散しにくくなり回収液の純度が悪くなります。
70%以上のエタノールの濃度で磁性ビーズが洗浄されている、または洗浄時間が短すぎる。	70%エタノールで洗浄してください。磁性ビーズが完全に分散するまで (1min.)洗浄してください。

[7] 関連商品

品名	内容	Code No.
Magical Trapper [®] <磁性ビーズ分離用スタンド>	1台	MGS-101

TOYOBO

【製造・販売元】

— 価格・在庫に関するお問い合わせ —

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (大阪)
〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (東京)
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号 住友商事京橋ビル
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

— 製品の内容・技術に関するお問い合わせ —

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00～12:00 , 13:00～17:00 (土日祝日、休日を除く)
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
[URL] <https://lifescience.toyobo.co.jp/>