

# 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

96 ウェル PCR プレート

96 ウェル 300  $\mu$ L 丸底プレート

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルプレート

### 磁気プレート

A32782 Agencourt SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

### 試薬

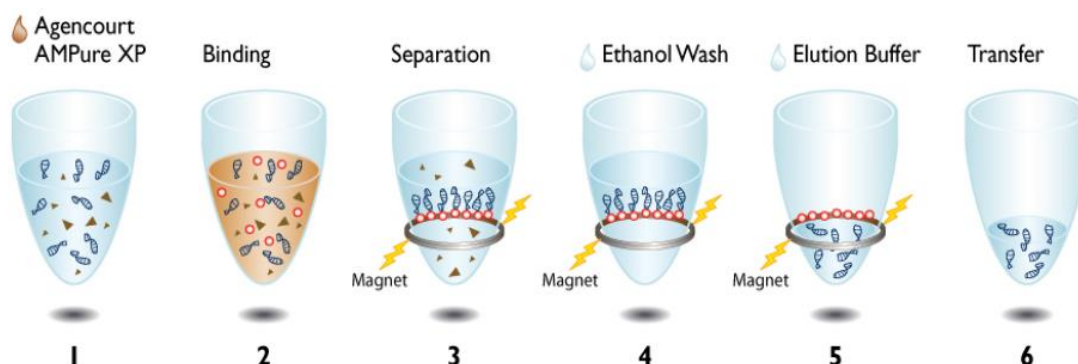
70%エタノール (用時調製)

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  $\mu\text{L}$  あたり、AMPure XP 1.8  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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

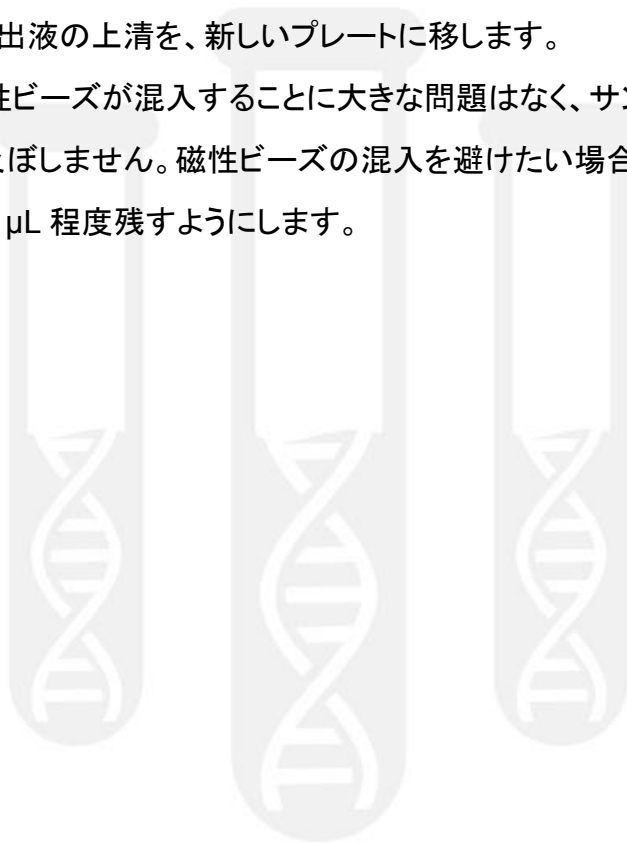
1. 反応プレートのウェル容量がサンプル液量の 2.8 倍を超えている場合、より大きなウェル容量の反応プレートに移しかえる必要があります。
2. AMPure XP のボトルを攪拌し、磁性ビーズを完全に再懸濁します。サンプル液量の 1.8 倍容の AMPure XP を加えます。

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. 反応プレートが磁気プレートから下ろし、ウェルに溶出液 40  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ L 程度残すようにします。



01-QMJ-161011

## 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>

