

# PureYield™ Plasmid Maxiprep System

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A2391, A2392, A2393

Quick  
PROTOCOL

注意: 本製品は、吸引法で利用していただくキットです。(アングルローターでの DNA 溶出はできません。)  
ご使用前に、Endotoxin Removal Wash には、イソプロパノール、Column Wash には、エタノールを所定の量(下表)を添加してください。  
添加後は、しっかりと蓋を閉めアルコール成分が揮発しないようにご注意ください。

| Endotoxin Removal Wash  | イソプロパノール | Column Wash             | 95% エタノール |
|-------------------------|----------|-------------------------|-----------|
| 2 preps system (A2391)  | 5.5ml    | 2 preps system (A2391)  | 30ml      |
| 10 preps system (A2392) | 24ml     | 10 preps system (A2392) | 137ml     |
| 25 preps system (A2393) | 57ml     | 25 preps system (A2393) | 350ml     |

**プロトコル** ※クリアライセートの調製、その後の精製、溶出操作はすべて室温で行ってください。

## 大腸菌クリアライセートの調製

1. 培養液(100-250ml)を 遠心 (5,000×g) し大腸菌を沈殿させ、培地を取り除く。 10 分
2. 大腸菌を Cell Resuspension Solution に懸濁する。 12ml
3. Cell Lysis Solution を添加し転倒混和後、  
室温で 3 分間インキュベーションする。 12ml
4. Neutralization Solution を添加し転倒混和させる。 12ml
5. 遠心 (15,000×g 室温) (または、遠心 (7,000×g 室温) ) し  
上清 (大腸菌クリアライセート) を取得する。 20 分 (30 分)

このステップでの遠心はアングルローターを使用してください。

## プラスミドの精製

1. PureYield™ Maxi Binding Column(白色; 以下 Binding Column)の上に PureYield™ Clearing Column (青色; 以下 Clearing Column) を重ね、吸引マニホールドにセットする (写真(A)を参照)。
2. 大腸菌クリアライセートの半量 Clearing Column に注ぐ。
3. 吸引を開始する。溶液が、Clearing Column および Binding Column を完全に通過するまで吸引を続ける。
4. 残りのライセートも注ぎ、吸引する。
5. 溶液が、Clearing Column および Binding Column を完全に通過するまで吸引を続ける。
4. コックを閉めたのち、ゆっくりと Clearing Column を取り除く。

\* Binding Column 内のメンブレンが、底面から外れたら滅菌したチップ (ピペットを接続する側) で元の位置に押し込んでください。

## 洗浄

5. 5ml の Endotoxin Removal Wash (イソプロパノール添加済) を Binding Column に加えたのち、コックを開けて吸引を開始する。 溶液が Binding Column を完全に通過するまで続けたのち、コックを閉める。
6. 20ml の Column Wash Solution (エタノール添加済) を Binding Column に加え、コックを開けて吸引を開始する。
7. 溶液が Binding Column を完全に通過したのち、さらに空の状態で、30~60 秒間吸引し続け、メンブレン上に残っている試薬を完全に取り除く。 終了後、吸引を停止する。



  
Promega

## PureYield™ Plasmid Maxiprep System

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A2391, A2392, A2393

Quick  
PROTOCOL

### Eluator™を用いた溶出

8. Eluator™ Vacuum Elution Device の base unit に、滅菌した 1.5ml チューブをセットしチューブキャップをセットする（下の写真(B)を参照）。
9. Vac-Man® Manifold から、Binding Column を取り外し、チップの先の残液をペーパータオル等で拭き取る。Binding Column を、Eluator™ Vacuum Elution Device にセットする（写真(C)を参照）。
10. **1ml の Nuclease-Free Water** を Binding Column 内のメンブレンにしみ込ませるように加え、1 分間静置させたのち、吸引を 1 分間行う<sup>\*1</sup>。
11. 吸引を停止し、溶出したプラスミドを含む 1.5ml チューブを回収する。

### スイングローターを用いた溶出 \*（アングルローターは使用できません）

8. ステップ 7 の後に、Vac-Man® Manifold から、Binding Column を取り外し、チップの先の残液をペーパータオル等で拭き取る。
9. 新しい 50ml の遠心チューブに Binding Column をセットし、**1.5ml の Nuclease-Free Water** を Binding Column 内のメンブレンにしみ込ませるように加え、1 分間静置させる<sup>\*1</sup>。
10. スイングローターを使って室温で 5 分間遠心する（2,000×g）。50ml のチューブに得られた DNA は、1.5ml のチューブ等に移して保管する。

\*1： 長鎖（10kb 以上）のプラスミドを溶出させる場合、あらかじめ 65℃に加温した Nuclease-Free Water を用いることで

メンブレンから核酸の解離を促進することができます。

A



B



C

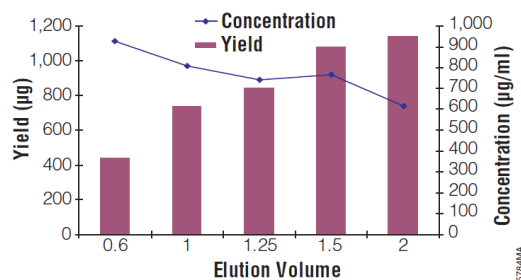


**Promega**

## PureYield™ Plasmid Maxiprep System

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A2391, A2392, A2393

Quick  
PROTOCOL



**Figure 4. Concentration and yield of DNA from a variety of elution volumes.** Cultures (250ml) of JM109 cells containing phMGFP plasmid were grown under standard conditions. Cells were pelleted and DNA purified using the PureYield™ Plasmid Maxiprep System. Elution volumes ranged from 0.6-2ml, when eluted by centrifugation. Each data point is the average of three sample results. Note that the volumes eluted from the column are typically less than the volume added due to rehydration of the membrane.

図は、遠心法で溶出した場合ですが、Eluator™ を利用する場合、小容量でも効率よく溶出可能です。



**Promega**