

品名	カタログ番号
Gel Filtration Cartridge Ver.20	42453

はじめに

Performa DTR (Dye Terminator Removal) Gel Filtration Cartridge は、シークエンシング反応後のダイターミネーター、dNTPs やその他の低分子物質（塩など）の除去に最適なゲルマトリックスを充填した 0.8ml 容量のクロマトグラフィーカラムです。

このカラムは、DNA プライマー、15 塩基以下のフラグメント、バッファー、ビオチン標識化 dNTP、アイソトープ、その他の標識化分子の除去にもご利用いただけます。カラムには、水で十分に膨潤したマトリックスが、充填済みです。

キット内容

Performa Gel Filtration Cartridge	108 本	(PN 4050167 × 3)
1.5ml マイクロチューブ	108 本	(PN 4050087)

保存及び安定性

カートリッジは、+4°Cで保存してください。決して、凍結させないで下さい。

必要機器及び部品

このキットに必要な機器

- 1.ベンチトップ型、フロー型の低速遠心機（850×g が出る機種に限る*付録参照）
- 2.マイクロ遠心チューブ用キャリアー

品質管理

シグナル強度、蛍光標識化物質の除去、シークエンシング精度などの品質に関し、ゲルシークエンサーで確認しています。

推奨プロトコール

A. BigDye™ v3.1 & V1.1、SupreDye™ v1.1 & v3.1 用の推奨プロトコール

1. カートリッジが装着された微量遠心チューブを遠心機にセットして、850×g で、3 分間遠心する*。
 - ・ ここでの遠心力と遠心時間が重要です。お持ちの遠心機の設定が 800 x g の次が 900 x g、のように 850 x g の設定が出来ない際は付録をご覧ください。
 - ・ 遠心時間が長すぎたり、g が強すぎるとゲルの水分が少なくなり、目的産物の回収に時間がかかりすぎたり、収量も低くなります。
 - ・ 遠心時間が短かすぎたり、g が弱すぎると最後の容出量が最初にカートリッジに加えた容量よりも多くなります。
 - ・ 商品の到着時に、運送中の振動でゲルが微量遠心チューブのキャップ部分に付着している場合がありますが、ゲルはこのステップの遠心操作でカートリッジの中に再充填されます。性能には影響ありません。

2. カートリッジをキット付属の新しい 1.5ml チューブに移しかえ、サンプルをカートリッジ内部のゲルにアプライする。サンプル溶液が確実にゲルに入り込むようにする。

- ・ 微量高速遠心機または、他の固定角アングルローターの遠心機を使用する場合、遠心によって傾斜したゲル表面の中心部にサンプル溶液をアプライしてください。

3. キャップをして、850×g で 3 分間遠心し流出液を回収する。

- ・ 一連の操作でおよそ 4μl 程度、もとのサンプル容量よりも減少することがあります。
- ・ もし、溶出液量がアプライした容量より 4μl 以上少なかった時は、ゲルが乾燥しすぎている指標になります。その時は、もう一度遠心して、サンプルの回収率を上げてください。

B. その他のダイターミネーター用の推奨プロトコール

1. カートリッジが装着された微量遠心チューブを遠心機にセットして、750×g で、2 分間遠心する。

2. カートリッジをキット付属の新しい 1.5ml チューブに移しかえ、サンプルをカートリッジ内部のゲルにアプライする。サンプル溶液が確実にゲルに入り込むようにする。

3. キャップをして、750×g で 2 分間遠心し流出液を回収する。

<付録>

・遠心機の RCF の設定が 850、750 の設定が出来ない（十の位の設定がない）場合は、回転数 RPM を使って設定してください。

RCF から RPM の計算式は以下の通りです。

relative centrifugal force(RCF)

revolutions per minute (RPM)

半径を示す r は回転軸からカラムのゲル表面までの距離（mm）をご使用下さい。

BigDye v3.1 の場合→ **To achieve RCF = 850 x g:**

$$RPM = 27,549 \sqrt{\frac{1}{r}}$$

その他の Dye の場合→ **To achieve RCF = 750 x g:**

$$RPM = 25,877 \sqrt{\frac{1}{r}}$$

または、エッジバイオシステムズ社 ウェブサイト <http://www.edgebio.com/support> にアクセスしていただき、

Conversion tools のリンクの中から、Edge RCF to RPM Converter に r の値を入力すると自動計算させることが出来ます。

<トラブルシューティング>

症状	原因	解決法
シーケンスシグナルが弱い	10μL 以下のサンプルを精製している	本製品にサンプルをロードする前に、シーケンス反応溶液を 10-20μL に調節してください。
	遠心の設定が不適切である	使用する Dye に合わせて回転数の設定を再計算してください。
	シーケンス反応条件が最適でない	シーケンス反応の試薬メーカーのプロ

		トコールに従い、適切にアッセイしてください。
シーケンスデータの波形に飛びぬけて大きなノイズ (Dye blobs) が出ている。	ロードするサンプル量が多すぎる	サンプル量を減らしてください。
	遠心の設定が不適切である	<ul style="list-style-type: none"> 使用する Dye に合わせて回転数の設定を再計算してください。 BigDye3.1 の場合は 3 分、850×g でプレスピンを行っていることを確認してください。 BigDye3.0 やその他の Dye の場合は、2 分、750×g でプレスピンを行っていることを確認してください。
	サンプルのロード方法が適切でない。	サンプルをカートリッジにロードする際は、ひび割れを避けながらなるべく中心付近にゆっくりとアプライしてください。
	シグナル強度が強すぎる。	シーケンス反応後のサンプルを 1 部だけ精製してください。強いシグナルは少量の dye ターミネーターに対する効果を強調します。
5'末端のシグナルが欠落している。	遠心の設定が不適切である	使用する Dye に合わせて回転数の設定を再計算してください。
	大きなノイズ (Dye blobs) が存在する。	“シーケンスデータの波形に飛びぬけて大きなノイズ (Dye blobs) が出ている。” の項目をご覧ください。
	サンプル量が 10uL 以下である。	本製品にサンプルをロードする前に、シーケンス反応溶液を 10-20uL に調節してください。
	シーケンス反応条件が最適でない	シーケンス反応の試薬メーカーのプロトコールに従い、適切にアッセイしてください。
回収サンプル量が異常に多い。(ロード量+5uL 以上)	遠心の設定が不適切である。	<ul style="list-style-type: none"> 使用する Dye に合わせて回転数の設定を再計算してください。 BigDye3.1 の場合は 3 分、850×g でプレスピンを行っていることを確認してください。 BigDye3.0 やその他の Dye の場合は、3 分、750×g でプレスピンを行っていることを確認してください。
	ロードしたサンプル量が 20uL 以上である。	ロード量は 10-20uL に調製してください。
	本製品の保存方法が不適切だった。	<ul style="list-style-type: none"> 本製品は 4°C で保存してください。 本製品を凍結させないでください。 アルミバックを開封していない本製品は、数時間室温 (18-25°C) で保存することができます。
回収サンプル量が少ない。	遠心の設定が不適切である	使用する Dye に合わせて回転数の設定を再計算してください。
	サンプル量が 10uL 以下である。	本製品にサンプルをロードする前に、シーケンス反応溶液を 10-20uL に調節してください。
	本製品の保存方法が不適切だった。	<ul style="list-style-type: none"> 本製品は 4°C で保存してください。 本製品を凍結させないでください。 本製品を乾燥させないでください。開封後のアルミバックの口はしっかりと閉じて下さい。

注意！この商品は研究用にのみご使用下さい。人や動物の診断目的には使わないで下さい。