

無細胞くんSI：微量透析法による鋳型DNA濃度最適条件の検討

SI

外液 10 mL 内液 1 mL アミノ酸混合液 1 mL (非標識)

微量透析ユニット
Xpress Micro Dialyzer
MWCO; 12-14 kDa

2mL 丸底
チューブ

0.6mL チューブ

2

アミノ酸混液を外液と内液それぞれ840 μ Lと84 μ L加え、よく混合します。
* 内液は、泡立たないように静かにピペティングで混合します。

3

外液を2mLチューブにそれぞれ1mLずつ分注します。

① 内液100 μ L、外液1mLの場合、1キットあたり、最大10反応(本プロトコール)。内液50 μ L、外液0.5mLの場合、1キットあたり、最大20反応分になります。

4

内液を0.6 mLチューブにそれぞれ97 μ Lずつ分注します。

① SDS-PAGE等での発現確認の際の比較サンプルとして、残った内液を10 μ L程度小分けし、冷蔵保存しておく。

5

各濃度に調製した鋳型DNAをそれぞれ3 μ Lずつ内液に加え、よく混合します。

6

透析ユニットに内液100 μ Lを入れ、外液の入った2mLチューブに差し込む。

1 鋳型DNAの濃度を調製します。
* 下記濃度は一例です。

条件 (f.c. ug/mL)	1	3	5	10
鋳型DNA (500ug/mL)	1.3	4	6.6	13.2
水	18.7	16	13.4	6.8
合計	20	20	20	20

(μ L)

緩やかに振とうしながら、4~16時間、30 $^{\circ}$ Cでインキュベートします。

無細胞くんSI：微量透析法による鋳型DNA濃度最適条件の検討 (操作フロー図)

