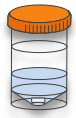
無細胞くんSI ：微量透析法による鋳型DNA濃度最適条件の検討

SI


外液 10 mL

内液 1 mL

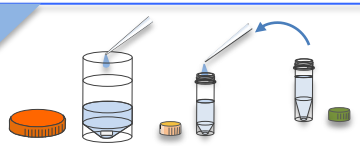
アミノ酸混合液 1 mL
（非標識）

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

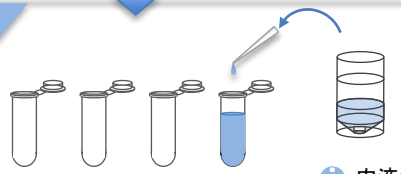
2



アミノ酸混液を外液と内液それぞれ840µLと 84µL 加え，よく混合します。

＊内液は，泡立たないよう静かにピペッティングで混合します。

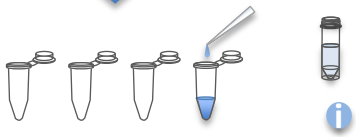
3



外液を2mLチューブにそれぞれ1mLずつ分注します。

内液100µL，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50µL，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



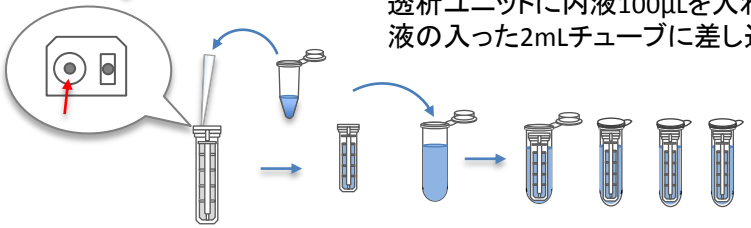
内液を0.6 mLチューブにそれぞれ97µLずつ分注します。

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10µL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 µLずつ内液に加え，よく混合します。

6



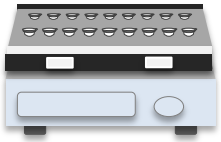
透析ユニットに内液100µLを入れ，外液の入った2mLチューブに差し込む。

1

鋳型DNAの濃度を調製します。

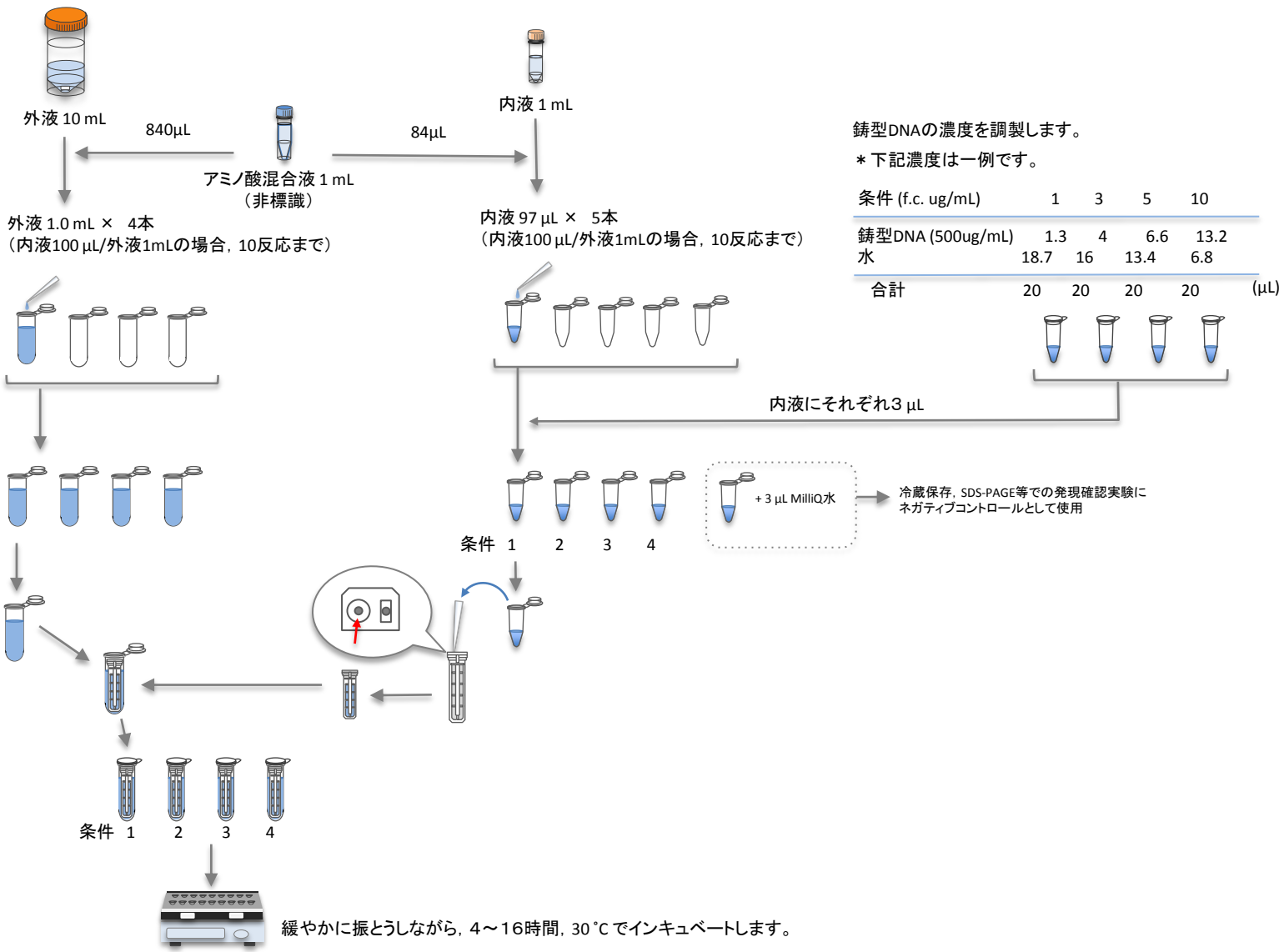
＊下記濃度は一例です。

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	(µL)



緩やかに振とうしながら，4～16時間，30 ˚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)



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	(µL)