

Quick Reference Guide

BigDye® Terminator v3.1/1.1 Cycle Sequencing Kit



1. 反応液調製

BigDye® Terminator	8uL
Ready Reaction Mix	
Template	※
Primer	3.2pmol
Deionized water	
Total Volume	20uL

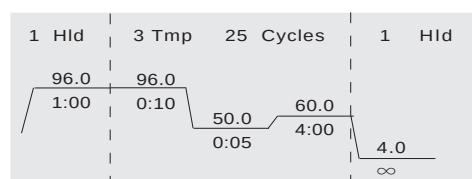
※ テンプレート使用量は以下を参考に加えて下さい。

Single-stranded DNA	25-50 ng
Double-stranded DNA	150-300 ng
PCR Products(100-200 bp)	1-3 ng
(200-500 bp)	3-10 ng
(500-1000 bp)	5-20 ng
(1000-2000 bp)	10-40 ng
(>2000 bp)	20-50 ng

2. Thermal cycling (GeneAmp® PCR System 9700, 2700, 2400, 9600)

Hold	96 °C	1 min
Cycle	96 °C	10 sec
	50 °C	5 sec
	60 °C	4 min
Hold	4 °C	store

25cycles



3. サンプルの精製

A. エタノール沈澱による精製

ここでは 96 Well Plate (P/N N801-0560)での精製方法を示しています。マイクロチューブでの精製の遠心条件および操作法にて行なって下さい。

※1 15000rpm, 20min ※2 15000rpm, 10min 5min ※3 15000rpm ※4 5000rpmにより除去

【エタノール / EDTA 精製】

反応済みサンプル 20uL

+ 125mM EDTA 5 uL
+ 100%エタノール 60 uL

シールして4回転倒混和(e.g. アルミシール P/N JP-405)

15分間 室温放置

遠心^{※1} 使用可能な最大遠心速度で行なう
遠心時間: 1.4k-2k × g の場合は45分間
2k-3k × g " 30分間
遠心温度: 4°Cまたは室温

裏返して、最大 185 × g でフラッシュ^{※4}

+ 70%エタノール 60uL

遠心^{※2} 1.4k-2k × g, 15min, 4°Cまたは室温

裏返して、最大 185 × g で1分間 遠心^{※4}

Dry up

【エタノール / EDTA / 酢酸ナトリウム精製】

反応済みサンプル 20uL

+ 125mM EDTA 2uL
+ 3M 酢酸ナトリウム 2uL
+ 100%エタノール 50uL

シールして4回転倒混和

15分間 室温放置

遠心^{※1} 使用可能な最大遠心速度で行なう
遠心時間: 1.4k-2k × g の場合は45分間
2k-3k × g 30分間
遠心温度: 4°Cまたは室温

裏返して、最大 185 × g でフラッシュ^{※4}

+ 70%エタノール 70uL

遠心^{※3} 1.4k-2k × g, 15min, 4°Cまたは室温

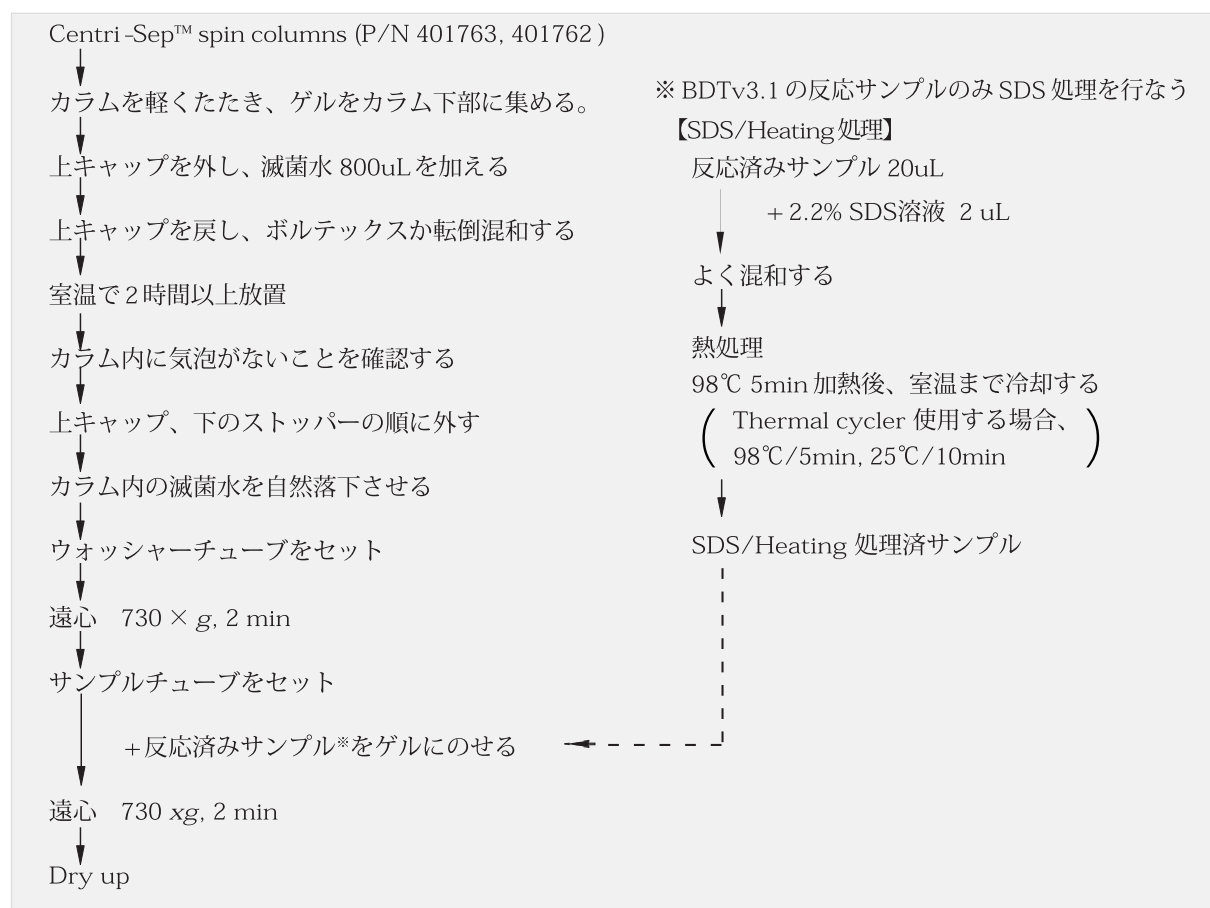
裏返して、最大 185 × g で1分間 遠心^{※4}

Dry up

遠心温度は4°C、室温どちらでも可能ですが、4°Cでは低分子フラグメントの回収が若干改善します。

未使用の蛍光ターミネータが多量に残存することが予想される場合は、エタノール / EDTA 精製をお勧めします。

B. Centri-Sep™ スピンカラムを用いた精製



- ・ドライアップしたサンプルは、使用するシーケンス及びポリマーに適したサンプル溶解液に戻してシーケンス用サンプルとします。
 - ・スピンプレートによる精製法は、各英文プロトコルをご参照下さい。
 - ・384well plate format あるいは、Large template(BAC, Cosmid 等)からのシーケンスはプロトコルが異なります。別途、各英文プロトコルをご参照下さい。
- ※英文プロトコル BDT v3.1 Protocol (P/N 4337035), BDT v1.1 Protocol (P/N 4337036)

Ordering Information

商品番号	商品名	容量
433745	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	24 反応
433745	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	100 反応
433745	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	1000 反応
433745	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	5000 反応
433703	BDT v3.1 Protocol (日本語プロトコル付)	各 1 冊
433744	BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	24 反応
433745	BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	100 反応
433745	BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	1000 反応
433745	BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	5000 反応
433703	BDT v1.1 Protocol (日本語プロトコル付)	各 1 冊
433669	BigDye® Terminator v1.1/v3.1 Sequencing Buffer (5x),	1mL
433669	BigDye® Terminator v1.1/v3.1 Sequencing Buffer (5x),	28mL



アプライドバイオシステムズジャパン株式会社

本 社：〒104-0032 東京都中央区八丁堀 4-5-4 秀和桜橋ビル
TEL.03 (5566) 6100 / FAX.03 (5566) 6501

大 阪：〒564-0052 大阪府吹田市芝町 10-28 江坂ビルディング
TEL.06 (6389) 1201 / FAX.06 (6389) 1206

本製品は研究目的にのみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用はできません。
AB(Design) is trademark, and Applied Biosystems and BigDye are registered trademarks of Applied Biosystems Corporation or its subsidiaries in the US and certain other countries.

Centri-Sep is a trademark of Princeton Separations, Inc.

GeneAmp are registered trademarks of Roche Molecular Systems, Inc.

記載の社名および製品名は、弊社もしくは各社の商標または登録商標です。

製品の仕様・外観は改良のため予告なしに変更される場合があります。

製品に対するお問い合わせ、ご質問は弊社営業所または取扱店までご連絡ください。

(c)2003 Applied Biosystems Japan Ltd. All rights reserved.