

# TempliPhi と従来法 (アルカリ-SDS 法によるミニプレップ) によるコロニーからのプラスミド鑄型調製の比較

## 従来法

コロニーをピックアップし培養液に加える

上記培養液を~24時間培養する

ペレットを遠心

上清を除去

TE溶液を添加

NaOH / SDS溶液を添加

酢酸カリウムを添加

遠心

上清を新しいチューブへ移動

塩を添加

エタノールを添加

遠心

風乾

TE溶液に懸濁

シーケンシング反応へ

**約2時間の作業時間**

## TempliPhi 2000反応キット

10  $\mu$ l Denature bufferにサンプル\*<sup>1</sup>を添加

95  $^{\circ}$ C にて3分間熱変性

10  $\mu$ l TempliPhi PreMixを添加

30  $^{\circ}$ C にて18時間\*<sup>2</sup>反応後65  $^{\circ}$ C にて

10分間熱変性

シーケンシング反応へ

## TempliPhi 100 / 500反応キット

5  $\mu$ l Sample bufferにサンプルを添加

95  $^{\circ}$ C にて3分間熱変性

5  $\mu$ l Reaction bufferに0.2  $\mu$ l Enzyme Mixを加えた溶液を5  $\mu$ l 添加

30  $^{\circ}$ C にて18時間\*<sup>2</sup>反応後  
65  $^{\circ}$ C にて10分間熱変性

シーケンシング反応へ

**約15分の作業時間**

\*1 サンプルはコロニーのほかグリセロールストックや液体培地などが使用できます。

\*2 サンプルによっては短縮することも可能です

TempliPhi のプロトコールは非常に簡便なため、96 サンプルのパクテリアコロニーを処理するのに必要な手作業の時間は約 15 分です。