

お客様からの製品フィードバック

製品名 : KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye (KK3607)
メーカー名 : KAPA BIOSYSTEMS 社
アプリケーション : 電気泳動色素入りPCRマスターミックスによる
簡便マウスジェノタイピング

下記のデータは、愛媛大学大学院 医学系研究科 分子病態医学のお客様のご厚意により掲載させて頂きました。

方法

KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye

● PCR用試薬

KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye (KK3607)

● 反応組成

| | |
|--------------------------|----------------|
| ・PCR Grade Water | : 9.5 μ L |
| ・2x KAPATaq EXtra ミックス | : 12.5 μ L |
| ・Fwd Primer (10 μ M) | : 1.25 μ L |
| ・Rev Primer (10 μ M) | : 1.25 μ L |
| ・Template | : 0.5 μ L |
| Total | : 25 μ L |

● PCRサイクル条件〈両製品共通〉

| | | |
|-----------------|----------|----------|
| 94 $^{\circ}$ C | 1min | } 35サイクル |
| 98 $^{\circ}$ C | 10sec | |
| 58 $^{\circ}$ C | 30sec | |
| 72 $^{\circ}$ C | 1min | |
| 4 $^{\circ}$ C | ∞ | |

電気泳動
(各反応液10 μ lをそのまま使用)

マウステール
↓
細胞溶解 (ProK)
DNA抽出
↓
PCR

電気泳動

従来法〈他社〉

● PCR用試薬

他社製品

● 反応組成

| | |
|--------------------------|----------------|
| ・PCR Grade Water | : 13.8 μ L |
| ・10 × Buffer | : 2 μ L |
| ・dNTP Mix (2.5mM) | : 1.6 μ L |
| ・Fwd Primer (10 μ M) | : 1 μ L |
| ・Rev Primer (10 μ M) | : 1 μ L |
| ・Template | : 0.5 μ L |
| ・Polymerase | : 0.1 μ L |
| Total | : 20 μ L |

● PCRサイクル条件〈両製品共通〉

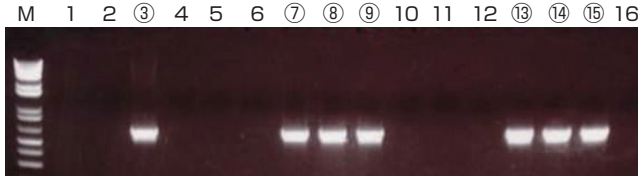
| | | |
|-----------------|----------|----------|
| 94 $^{\circ}$ C | 1min | } 35サイクル |
| 98 $^{\circ}$ C | 10sec | |
| 58 $^{\circ}$ C | 30sec | |
| 72 $^{\circ}$ C | 1min | |
| 4 $^{\circ}$ C | ∞ | |

各反応液10 μ lに電気泳動用バッファー添加

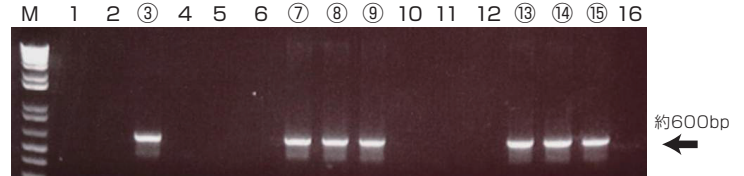
電気泳動

結果

● KAPA



● 他社(従来法)



どちらも同じジェノタイピング結果が得られました。
増幅効率については、KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dyeのほうが、より良好であることが示されました。

電気泳動条件
2%TAEアガロースゲル 100V 30min
各反応液10 μ Lアプライ (マーカーのみ5 μ Lアプライ)

<お客様のコメント>

ホットスタート付きマスターミックスなので、試薬の調製が簡便。
また、電気泳動色素入りのため、PCR後にいちいち添加する手間が要らなかった。
このように使い勝手が良いだけでなく、増幅効率も良い。