

## お客様からの製品フィードバック

製品名：KAPATaqEXtra PCR Kit (KK3009)

メーカー名：KAPA BIOSYSTEMS 社

アプリケーション：アルコール代謝関連遺伝子ALDH2遺伝子のSNPタイピング

下記のデータは、東京医科大学 生化学講座 車 暁芳 様のご厚意により掲載させて頂きました。

### 実験方法

「ヒトのアルコールに対する強さ」に関連するアルコール代謝関連遺伝子のひとつであるALDH2遺伝子のSNPを判定するため、以下の条件でターゲット領域をPCR増幅し、制限酵素 *Mbo*IIによる制限消化の有無によりSNPタイピングを実施した。

#### 1) サンプル

インフォームドコンセントの得られた健常者の口腔粘膜よりゲノムDNAを抽出した。

#### 2) PCR反応組成

KAPATaq EXtra DNAポリメラーゼ (5U/ $\mu$ l)	0.2 $\mu$ l
5×KAPATaq EXtraバッファー (Mg <sup>2+</sup> free)	8 $\mu$ l
25mM MgCl <sub>2</sub>	2.8 $\mu$ l
dNTP Mix (10mM each)	1 $\mu$ l
PrimerF (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
PrimerR (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
Template DNA	20 $\mu$ l
PCR grade Water	4 $\mu$ l
total	40 $\mu$ l

#### 3) プライマー配列

F ; 5' - CAAATTACAGGGTCAACTGCT -3 '  
R ; 5' - GCCACACTCACAGTTTTCTCTT -3 '

#### 4) サイクルプログラム

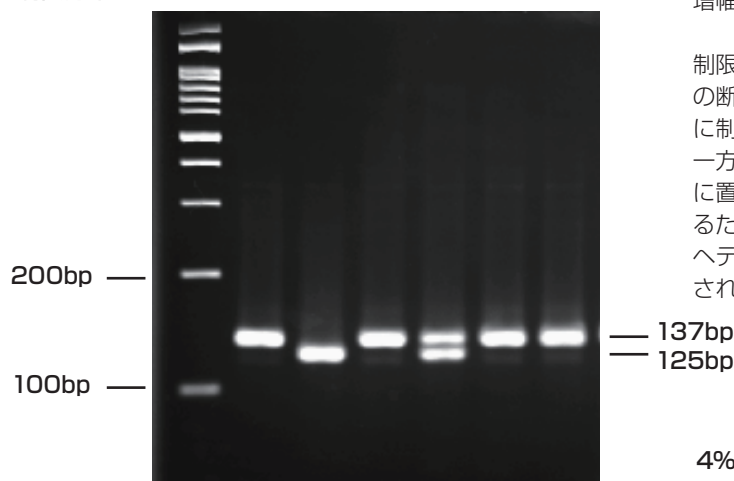
94°C	2 min	1 cycle
94°C	30 sec	40cycles
60.5°C	30 sec	
72°C	30 sec	
72°C	7 min	1 cycle

サーマルサイクラー：BIO-RAD MyCycler

参考文献 Nakamura, K. *et al.*, Biochemistry and Molecular Biology International, 31, 439-445 (1993)

### 結果

ALDH2遺伝子型 <i>Mbo</i> II制限酵素	野生型ホモ		ヘテロ		変異型ホモ	
	-	+	-	+	-	+



*Mbo*IIによる制限消化前は、いずれも137bpのPCR増幅産物が確認された。

制限酵素 *Mbo*II 処理により、野生型ホモでは125bpの断片が生じた。（\*実際には125bpと12bpの断片に制限消化される。）

一方、変異型ホモ（ALDH2-1の114塩基目のGがAに置換）では、*Mbo*IIの認識部位が変異を起こしているため、137bpのまま切断されなかった。

ヘテロでは、137bp、125bp、両方のバンドが確認された。

4%アガロースゲル,60分泳動,TAE buffer

#### <お客様のコメント>

KapaTaqExtraPCRキットは、価格に対して性能が高く、きれいな結果が得られましたため、本アッセイにも使用しました。PCRバンドはしっかり出て、信用できるキットです。