

## お客様からの製品フィードバック

製品名：KAPA MG Kit (KK7150MG)  
 KAPATaqEXtra HotStart Readymix with Dye (KK3606)  
 メーカー名：KAPA BIOSYSTEMS 社  
 アプリケーション：ノックアウトマウスのジェノタイピング

下記のデータは、愛媛大学大学院医学系研究科 循環生理学 青戸守 様のご厚意により掲載させて頂きました。

### 実験条件

#### ①従来法 (T社製品)

##### <Mouse tail DNAの抽出>

Mouse tail (2mm) in 1.5ml tube

↓  
 + 75μl Alkaline Lysis Buffer  
 (25mM NaOH, 0.2mM EDTA)

↓  
 95°C, 30min

↓  
 4°C

↓  
 + 75μl Neutralization Buffer  
 (40mM TrisHCl, pH 5)

Vortex well

##### <PCR反応組成>

10x反応 Buffer	2.5μl
2.5mM MgCl <sub>2</sub>	2μl
2.5mM dNTP mix	2.5μl
10μM Fwd Primer	1.25μl
10μM Rev Primer	1.25μl
Template	1μl
T社酵素	0.25μl
MilliQ water	14.25μl
total	25μl

#### ②KAPA MG Kit

##### <Mouse tail DNAの抽出>

Kitのマニュアルに従った。

##### <PCR反応組成>

KAPA2G Robust	
HotStart ReadyMix (2x)	12.5 μl
10μM Fwd Primer	1.25μl
10μM Rev Primer	1.25μl
Template	1μl
MilliQ water	9μl
total	25μl

#### ③KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with dye (2x)

##### <Mouse tail DNAの抽出>

従来法と同じ。

##### <PCR反応組成>

KAPATaq EXtra	
HotStart ReadyMix with dye (2x)	12.5 μl
10μM Fwd Primer	1.25μl
10μM Rev Primer	1.25μl
Template	1μl
MilliQ water	9μl
total	25μl

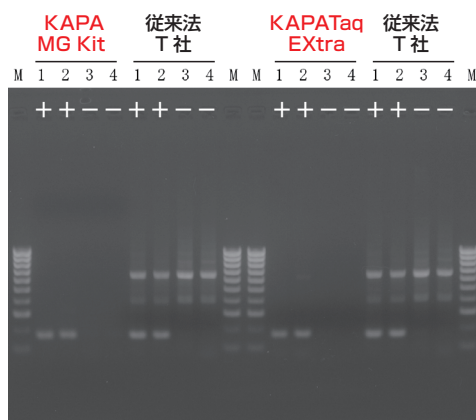
● PCR 装置：BIO-RAD T100 Thermal Cycler

##### ● PCR プログラム

95 °C, 3min	×1 cycle
95 °C, 15sec	} ×35 cycle
64 °C, 15sec	
72 °C, 15sec	
16 °C, ∞	

● 増幅サイズ：163bp

### 結果



操作およびPCR結果について、KAPA社キット2製品 (KAPA MG Kit, KAPATaqEXtra HotStart ReadyMix with dye) と従来法 (T社) を比較した。

KAPA社キットと従来法 (T社) の比較結果まとめ

- 両キットとも、従来法で見られた非特異的なバンドが検出されなかった。
- 両キットとも、増幅効率従来法と変わらない。
- 両キットとも、PCR反応液の調製が楽であるためミスが少ない (特に初学者にとって)。
- KAPA MG Kitは、従来法に比べてDNA抽出にかかる時間が短くて済む。
- KAPATaqExtraは色素入りなので、PCR後すぐに電気泳動が出来る。

M : マーカー  
 1,2 : ノックアウトマウス (+)  
 3,4 : 野生型マウス (-)

電気泳動条件  
 1% アガロースゲル、100V、30min  
 各反応液 10μl をアプライ。マーカーは 5μl。

#### <お客様のコメント>

ジェノタイピングのためのPCRで、KOのalleleを検出しています。

KapaBiosystems社キットでは、両キットとも非特異的な増幅が起こらず、結果が分かり易くなりました。

実験経験の少ない学生 (医学部1年生) でもミスなくジェノタイピングができました。