



Application

メダカ マルチプレックスジェノタイピング

製品名

KAPA Express Extract キット (KK7101) / PCR検出用DNA抽出試薬

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記フィードバックは国立遺伝学研究所小型魚類開発研究室新屋みり様のご厚意で掲載させていただきました。

方法

メダカG0およびF1の幼魚のヒレを用い、KapaExpressExtractキットで溶解 (60℃ 10分、95℃ 5分) してDNAを抽出しました。このライセートを用い、3種類のマーカーでマルチプレックスPCRを行い、ABI3730あるいは3130xlシーケンサー、およびGeneScan Analysisによりジェノタイプを検出/判定しました。

細胞溶解 → DNA抽出 → PCR → 検出 → 判定

<DNA抽出>

● サンプル

メダカ幼魚のヒレ (エタノール保存サンプル)

● KAPA Express Extract 反応組成

Buffer	10 μl
Enzyme	2 μl
滅菌水	85 μl
ヒレのサンプル	2~3 mm ²
(合計)	100 μl

● KAPA Express Extract 反応プログラム

60℃	10分
95℃	5分

<PCR>

● PCR反応組成 (1反応 20μlあたり)

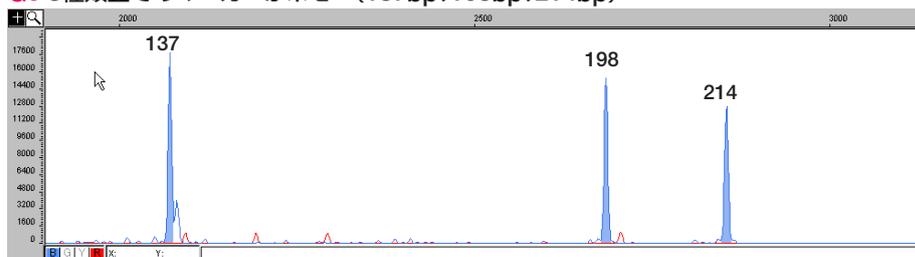
A社PCR酵素	0.5U
反応バッファー	最終1×反応バッファー
dNTPs	最終濃度 0.8mM (各0.2mM)
プライマー	最終濃度 各0.4μM
テンプレート	1μl (KAPA Express Extractライセートを3倍に希釈したもの)

● 反応プログラム

95℃	9min	} ×39サイクル
57℃	1min	
72℃	1min	
96℃	45s	
57℃	45s	
72℃	1min	
72℃	10min	

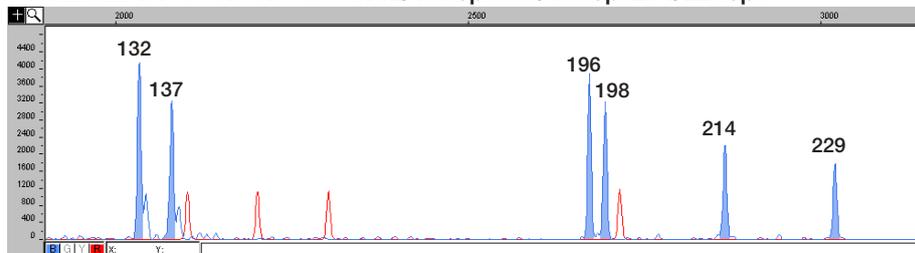
結果

G0 3種類全てのマーカーがホモ (137bp、198bp、214bp)



- マーカー1
ホモ : 137bp
ヘテロ : 132/137bp
- マーカー2
ホモ : 198bp
ヘテロ : 196/198bp
- マーカー3
ホモ : 214bp
ヘテロ : 214/229bp

F1 3種類全てのマーカーがヘテロ (132/137bp、196/198bp、214/229bp)



KapaExpressExpressキットにより、マルチプレックスPCRに十分なDNAが得られており、G0、F1ともにジェノタイピングが可能でした。



受精後2ヶ月のメダカ幼魚からのヒレ、という非常に小さい組織片からでも200-300PCR反応分のDNA溶液を得ることが出来る点、そして操作が比較的簡便なため多数のサンプルを扱える点が優れており、このキットを選びました。

お客様のコメント

