



Application

HRM解析によるHeLa細胞ゲノムDNAの SNPジェノタイピング

製品名

KAPA HRM Fast PCRキット (KK4200)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、岩手医科大学薬学部 分子生物薬学講座 荒木 信 先生のご厚意により掲載させていただきました。

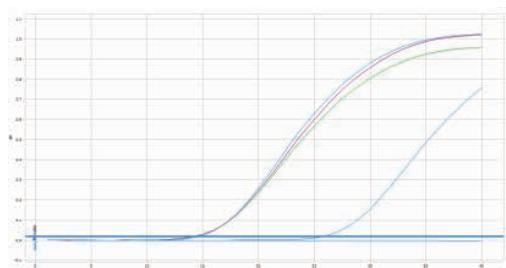
実験条件

ヒト細胞のモデルであるHeLa細胞より調製したゲノムに対してSNPジェノタイピングを実施し、配列既知のポジティブコントロールと比較しました。

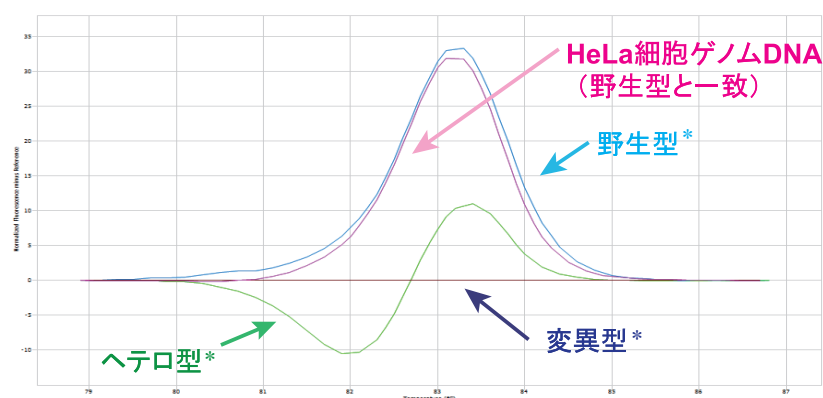
- サンプル : HeLa 細胞 より調製したゲノムDNA
※野生型、ヘテロ型、変異型のポジティブコントロールには各配列をクローニングしたプラスミドDNAを使用
- DNA抽出法 : SDS、EDTA、Proteinase Kで細胞を溶解し、フェノール/クロロホルム抽出を行い調製
- 増幅サイズ : 90bp
- 装置 : Illumina Eco Real-Time PCRシステム (アズワン株式会社)
- 試薬 : KAPA HRM Fast PCRキット (KAPA Biosystems社)
- 反応量 : 反応液量を10 μ lに設定
- 反応液組成 : KAPA HRM Fast PCRキットのプロトコルに従って調製
- サイクル : 95 $^{\circ}$ C 3 min
95 $^{\circ}$ C 3 sec } 40 cycle
60 $^{\circ}$ C 20sec }
95 $^{\circ}$ C 15sec } HRM
55 $^{\circ}$ C-95 $^{\circ}$ C 15sec }
所要時間 : 約50分

結果

増幅曲線



HRMカーブ解析



*各ポジティブコントロール

まとめ

ヒト細胞のモデルであるHeLa細胞より調製したゲノムに対してSNPジェノタイピング解析が可能であることが確認されました。野生型、ヘテロ、変異型の各ポジティブコントロールにプラスミドを使用することで容易に解析ができることも確認されました。

