



Application

GCリッチなDNA断片の増幅

製品名

KAPA Taq EXtra (KK3008)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、鶴見大学歯学部病理学講座 中山 亮子様のご厚意により掲載させていただきました。

実験条件

下記の条件で、PCR用酵素の比較をしました。

GC richな配列①または②に対してT社 長鎖増幅用酵素 およびKAPA Taq EXtraを用い、下記の条件でフラグメント①および②の増幅を試みました。

① 1,839bp GC含量 60.7%

② 1,260bp GC含量 64.3%

PCR reaction condition

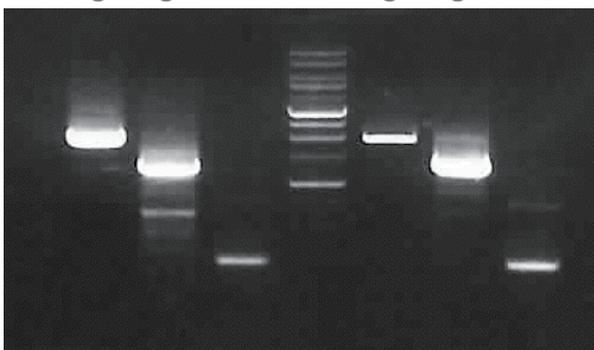
T社 長鎖増幅用酵素			KAPA Taq Extra		
primer set	1μl	1μl	primer set	1μl	1μl
Template ヒト由来株細胞cDNA	2	0.5	Template ヒト由来株細胞cDNA	2	0.5
2×buffer (GCリッチ用)	12.5	12.5	5×buffer	5	5
			MgCl2	2.5	2.5
dNTP	2	2	dNTP	1	1
酵素	0.2	0.2	KAPA Taq Extra酵素	0.1	0.1
WATER	7.3	8.8	WATER	13.4	14.9
total	25μl		total	25μl	

Cycle condition

94°C	5 min	} 35cycle
94	0.5 min	
58	0.5 min	
72	2 min	
72	7 min	

結果

T社 長鎖増幅用酵素 KAPA Taq EXtra
① ② GAPDH M ① ② GAPDH



T社 長鎖増幅用酵素ではフラグメント①が、KAPA Taq EXtraでは②が良好に特異性高く増幅した。

増幅したフラグメントをそれぞれ、T-easy vectorに組み込み、複数のクローンを得、そのいくつかにおいて配列の解析を行った。

Sequence	クローンNo.	決定済配列 (bp)	変異数	変異数/Kb	
① KAPA	18	1338	0	0.00	
	20	422	1	2.37	
	22	720	1	1.39	
① T社	6	1358	3	2.21	
	8	608	4	6.58	
② KAPA	1	1264	0	0.00	
	② T社	1	1264	0	0.00
		11	381	1	2.62

T社 長鎖増幅用酵素、KAPA Taq EXtra共に、いくつかのクローンで、複数箇所に点変異が見られた。解析に回したクローン数が多くない為、正確性の評価をすることは難しかった。



お客様のコメント

GCリッチな断片を増幅した結果、KAPATaqEXtraは非特異な増幅が少なく、シーケンス結果はT社 長鎖増幅用酵素と同等でした。