



Application

## 大腸菌コロニーダイレクトPCR

製品名

KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye (KK3607)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、国内のお客様のご厚意により掲載させて頂きました。

### 方法

● サンプル：大腸菌コロニーをそれぞれ24個ずつピックアップした

● 検討試薬

- (1) KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye
- (2) T社電気泳動用色素（青色/黄色）入りマスターミックス製品

● 反応組成（両製品とも共通）

2x Master mix	6.25 $\mu$ l
Primer A(10 $\mu$ M)	0.25 $\mu$ l
Primer B(10 $\mu$ M)	0.25 $\mu$ l
Water	5.75 $\mu$ l
テンプレート（コロニー）	
Total	12.5 $\mu$ l

● 反応プログラム（両製品とも共通）

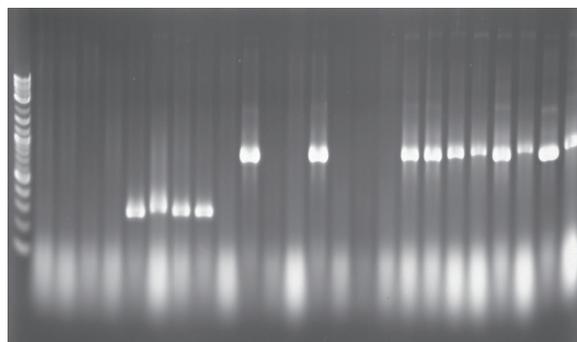
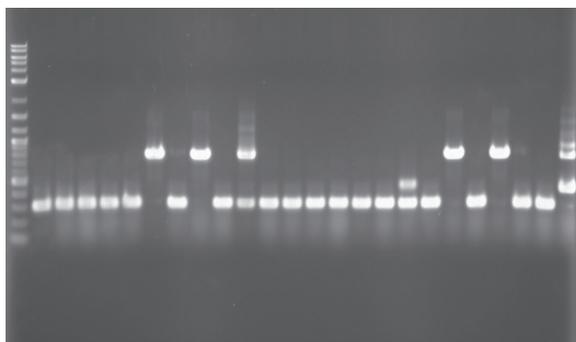
95 $^{\circ}$ C	5min	} 35 cycles
95 $^{\circ}$ C	30sec	
55 $^{\circ}$ C	30sec	
72 $^{\circ}$ C	2min	
72 $^{\circ}$ C	5min	
	4 $^{\circ}$ C	

● サーマルサイクラー：Takara Thermal cycler Dice

### 結果

KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dye

T社電気泳動用色素（青色/黄色）入りマスターミックス製品



← 約800bp  
（インサート有り）  
← 約300bp  
（インサート無し）

〈電気泳動/染色〉

DNAマーカー : NEB 2-Log DNA marker, 3 $\mu$ l/lane  
 サンプル : 5 $\mu$ l/lane  
           アガロース1.2% (TAEバッファー)  
 電気泳動条件 : Mupid Ex, 135V 30min  
 EtBr染色 : 20min  
 脱染色 (dH<sub>2</sub>O) : 20min



お客様のコメント

KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dyeの方がスメアーにならず綺麗な泳動パターンを得られた。  
 またT社マスターミックスでは加えた菌体量によるかもしれないがスメアーとなりインサートの有無が判定できないサンプルがあったが  
 KAPATaq EXtra HotStart ReadyMix with Dyeではインサートの有り（800bp）、無し（300bp）をはっきり捉えられた。  
 また12.5 $\mu$ l/tubeでも問題なく同様の結果が得られた。

