



Application

# マウスジェノタイピング

製品名

- ① KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
- ② KAPA MG Kit

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。

## テスト1: KAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kit

### ● 比較検討試薬

1. KAPA : KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
2. Ta社 : ブレンドタイプ酵素
3. Tb社 : クールドサンプル用酵素

### ● 前処理

mouse tail  
↓ add 150  $\mu$ l of 50mM NaOH  
95°C 50min  
↓ add 15  $\mu$ l of 1M Tris HCl (pH8.0)  
invert and spin down

### ● 反応液組成 各社取扱説明書どおり

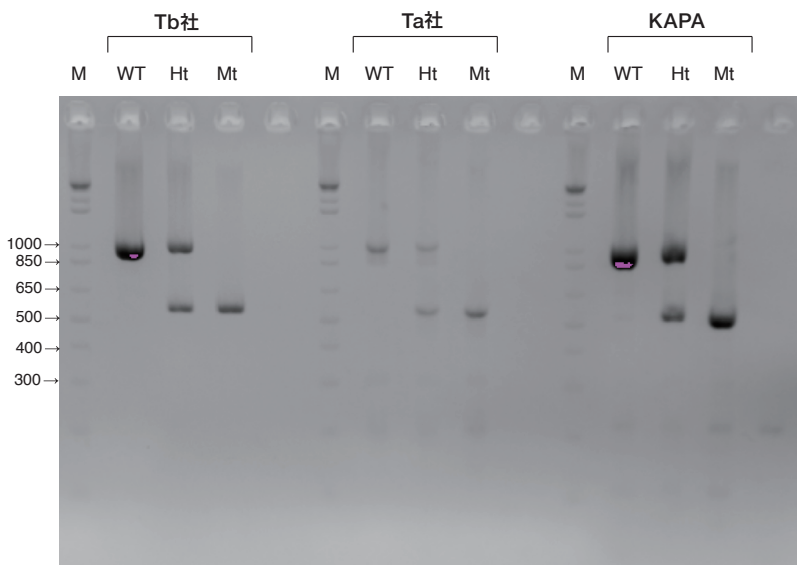
Tb社 : 50  $\mu$ l 反応  
Ta社、KAPA : 20  $\mu$ l 反応  
※いずれも DNA 粗抽出液 1  $\mu$ l を添加

### ● PCR 条件

	Step	Tb社	Ta社	KAPA
1	Initial denatation	94°C 2min	94°C 2min	95°C 3min
2	Denaturation	98°C 10sec	98°C 10sec	95°C 15sec
3	Primer annealing	60°C 30sec	60°C 30sec	60°C 15sec
4	Extension	68°C 2min	68°C 2min	72°C 15sec
5	Final extension	-	-	72°C 10min
6	cooling	4°C $\infty$	4°C $\infty$	4°C $\infty$
2-4		x30	x30	x35
	total time(min)	82	82	39

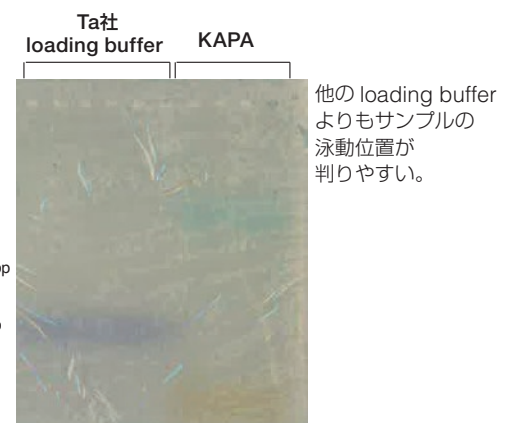
### ● 電気泳動 4%nusive agalose (100V 40min)

### ● 泳動結果



M : 1Kb plus ladder  
WT : wild type  
Ht : hetero  
Mt : mutant

### ● loading buffer の比較



### ● 結果まとめ

	sample	Tb社	Ta社	KAPA
1	WT	WT	WT	WT
2	hetero	hetero	hetero	hetero
3	mutant	mutant	mutant	mutant

## テスト2: KAPAMG Kit

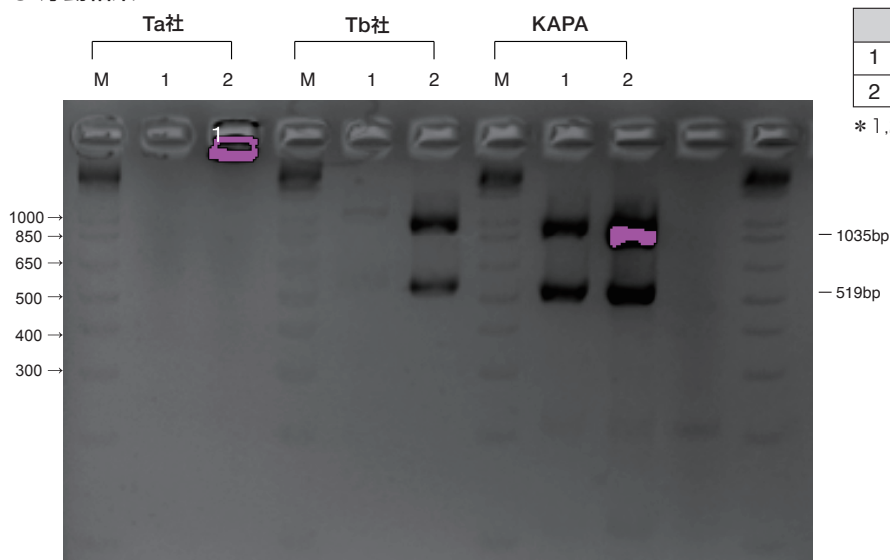
### ● DNA 抽出

- 1: KAPA Express Extract kit抽出 (75°C 10分、95°C5分)
- 2: 50mMNaOH抽出 (95°C 50分)
- ⇒KAPA kit抽出の方が抽出時間が短い。

### ● 前処理・反応液組成・PCR 条件

前ページ参照

### ● 泳動結果



M : 1Kb plus ladder  
1 : KAPA kit抽出  
2 : NaOH抽出

### ● 結果まとめ

	sample	Ta社	Tb社	KAPA
1	KAPA kit抽出	—	—	○
2	50mMNaOH抽出	—	○	○

\* 1,2 共に hetero sample を使用。

我々が普段genotypingを行っているマウスの一系統について検討を行った結果です。  
このサンプルはTa社製品ではかかきずらく、Tb社製品ではかかため、普段は後者を用いてgenotypingを行っています。  
今回はそれらをネガコン、及びポジコンとして、KAPA社製品を検討しました。

1ページ目のKAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kitでは、WT, hetero, mutantについて、それぞれ3種類の酵素で検討を行っております。  
WTとmutantではそれぞれ高さの違う所に1本、heteroではそれらが両方出ます。  
マウスの尻尾からのゲノム抽出は、我々は普段行っているNaOHによる方法を用いました。  
結果をご覧頂くと分かるように、KAPA 2G Robust HS ReadyMix PCR Kitはこれまで使っていた酵素よりもPCRのかかりが良い結果が得られました。

2ページ目のMG Kitについては、先ほどのheteroのサンプルについて、それぞれ3種類の酵素で検討を行っております。  
マウスの尻尾からのゲノム抽出については、我々は普段行っているNaOHによる方法と、MG Kitの方法を検討しました。  
その結果、MG Kitを用いて抽出、PCRを行ったものは一番PCRのかかりが良い結果が得られました。  
また、NaOH抽出→MG Kitの酵素でPCRの場合にもPCRはかかりました。一方、MG Kitで抽出した際には、他のPCR酵素ではPCRはかかりませんでした。

以上より、KAPAの酵素及びKitは、マウス尻尾からのgenotypingについては非常に良くワークするものであると思います。



お客様のコメント