



Application

大腸菌コロニーダイレクトPCR

製品名

- ① KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
- ② KAPA2GFast HotStart ReadyMix with Dye

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、大阪大学微生物病研究所 ウイルス免疫分野 井上雄嗣 様のご厚意により掲載させて頂きました。

方法

● 検討試薬

- ① KAPA2GRobust HotStart ReadyMix with Dye
- ② KAPA2GFast HotStart ReadyMix with Dye

● 反応組成 (両製品共通)

1×マスターミックス
0.5 μM forward primer (T_m = 62.1℃)
0.5 μM reverse primer (T_m = 53.6℃)
Template: プラスミド導入した大腸菌コロニー (インサート長 約1.5kb)

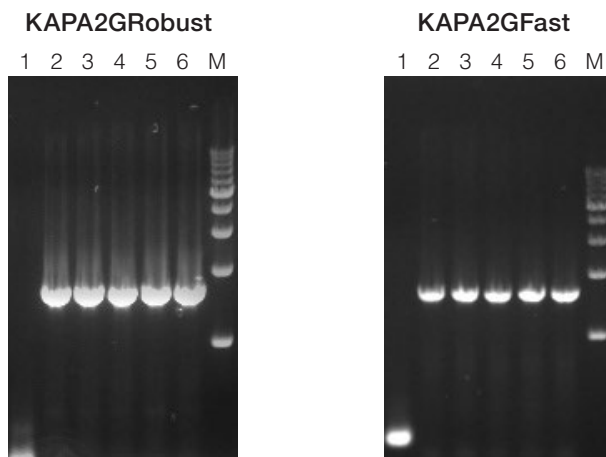
● 反応プログラム (両製品共通)

- (1) 3 min at 95℃
 - (2) 15 sec at 95℃
 - (3) 15 sec at 55℃
 - (4) 15 sec at 72℃
 - (5) 10 min at 72℃
 - (6) 12℃
- } ×35サイクル

● サーマルサイクラー

BioRad C1000 Thermal Cycler

結果



1 : セルフライゲーションしたプラスミド
2~6 : 目的のインサート (約1.5kb) が組み込まれたプラスミド
M : マーカー

どちらのキットでも、問題なく増幅が見られました。
クールドサンプルの増幅に最適なKAPA2GRobustでは、より良好な増幅を示しました。



お客様のコメント

今回は大腸菌形質転換後のコロニーダイレクトPCRに使用しました。
一方のプライマーのT_m値が55℃を下回っていて不安だったのですが、アニーリング温度を55℃以下にしないようにとの指示に従いました。
問題なく増幅でき、掛かった時間はちょうど1時間ほど。早くチェックしたいときに重宝しそうです。
今後も主に同様の用途で使おうでしょう。