



Application

ヒト癌細胞由来 cDNAサンプルからの標的遺伝子のクローニング

製品名

KAPA HiFi HotStart ReadyMix (KK2601)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、山形大学医学部腫瘍分子医科学講座 岡田雅司様のご厚意により掲載させて頂きました。

実験条件

ヒトの癌細胞からtotal RNAを回収し、調製したcDNAをテンプレートとして用い、標的遺伝子をKAPAHiFi Hot Start Ready Mixにて増幅し、クローニングした。

1) PCR反応組成

2.5 pmol/μl primer Fw	: 6μl
2.5 pmol/μl primer Rv	: 6μl
HiFi Hot Start Ready Mix	: 25μl
DMSO	: 2.5μl
cDNA mix	: 2μl
DDW	: 8.5μl

計50μlの系にて。

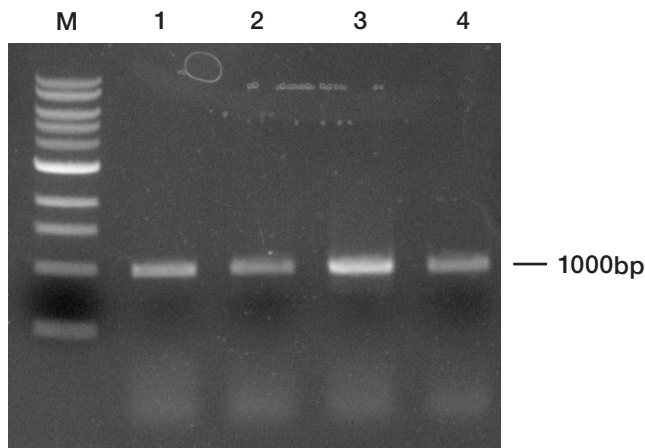
サイクルプログラム

95°C	3 min ×1
98°C	20 sec
60°C	15 sec
72°C	80 sec
72°C	5 min ×1
4°C	o/n

} ×30

サーマルサイクラー :Takara サーマルサイクラー ディス

結果



どのサンプル (レーン1~4) も、標的遺伝子の増幅が確認出来ました。

増幅させた遺伝子 (1000bp) のGC含量は、全体では65%ほどですが、一箇所250bpほど90%近い (87%) GC richな部分がありました。

そのせいで、他の酵素ではなかなか増幅されず、また、シーケンスでその部分だけ抜けてしまったり、ミスしていたりすることがありました。

KapaHiFiHotStartReadyMixでは、30サイクルくらいで他の酵素を用いたときと同程度の増幅が確認できました。

また、最終的にクローニングを行い、DNAシーケンスで配列を確認すると、ミスは全くありませんでした。

校正機能付きのミックスなので、安心して使えお手軽なことは嬉しい限りです。

入ってきたばかりの学生に実験を行ってもらったものではあるが、簡単に出来たので喜んでいました。



お客様のコメント