



Application

ヒト平滑筋細胞由来cDNAサンプルからの特定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、星薬科大学 臨床化学教室 畦地拓哉様のご厚意により掲載させて頂きました。

実験条件

1) 使用したPCR試薬の反応組成

A: T社高正確性酵素		B: KAPA HiFi	
Enzyme	1 μ l	2×KAPA HiFi HotStart Ready Mix	25 μ l
dNTPs	4 μ l	Primer F (10 μ M)	1.5 μ l
5×Buffer	10 μ l	Primer R (10 μ M)	1.5 μ l
Primer F (10 μ M)	1 μ l	N.W.	17 μ l
Primer R (10 μ M)	1 μ l	Template	5 μ l
Nuclease free water (N.W.)	28 μ l	※2回目はTemplateを7.5 μ L使用	
Template	5 μ l		
Total	50 μ l	Total	50 μ l

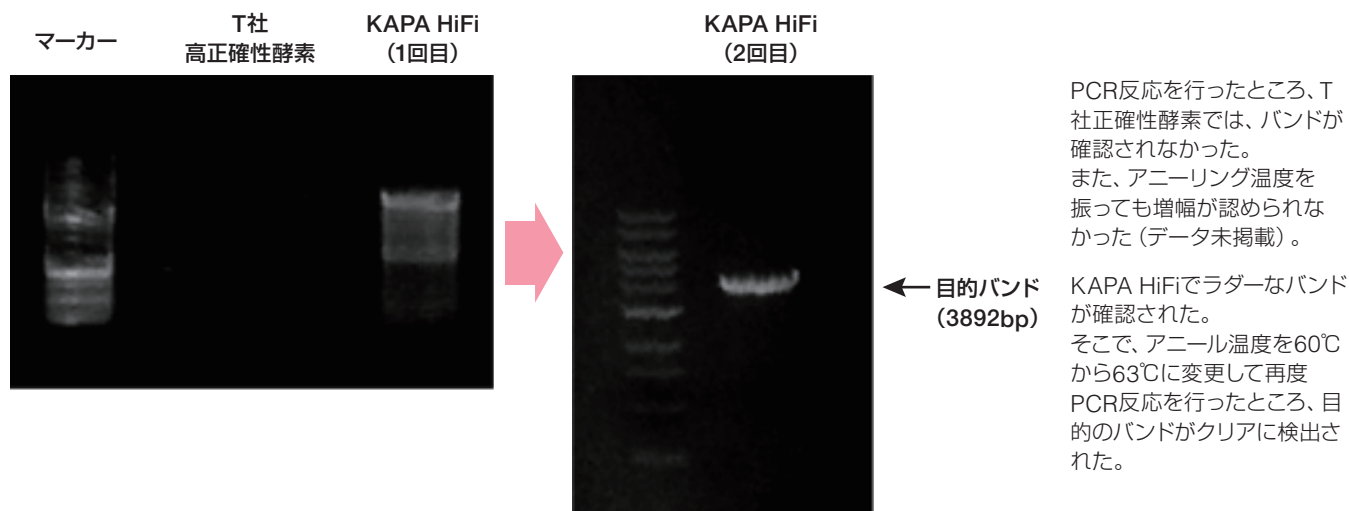
2) PCR装置、PCRプログラム、増幅サイズ

PCR装置 : GeneAmp PCR System 9700

増幅サイズ : 3892 bp

PCRプログラム	A: T社高正確性酵素	B: KAPA HiFi (1回目)	C: KAPA HiFi (2回目)
	98°C, 1min	95°C, 5min	95°C, 5min
	98°C, 10sec	98°C, 20sec	98°C, 20sec
	60°C, 15sec	60°C, 15sec	63°C, 15sec
	68°C, 4min	72°C, 2.5min	72°C, 2.5min
	68°C, 5min	72°C, 5min	72°C, 5min
	×35 cycle	×35 cycle	×35 cycle

結果



お客様のコメント

これまで、クローニングではT社高正確性酵素を中心に使用してきた。今回、KAPA HiFiを使用したところ、T社高正確性酵素と比較して速いスピードで増幅が可能であり、また、長鎖(3.9kb)のクローニングが可能であった。さらに、シーケンス解析により高い正確性が確認でき、クローニング用の酵素として有用であると思われる。