



Application

初代培養マウス肝細胞におけるIFN γ 誘導性IDO (インドールアミン2,3 ジオキシゲナーゼ) のsiRNAによる ノックダウン効果の検証

製品名

KAPA HiFi HotStart ReadyMix (KK2601)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

以下のアプリケーションデータは武蔵野大学薬学部免疫学研究室 小谷仁司 様 のご厚意により掲載させていただきました。

方法

●テンプレートcDNAの調製

マウスから採取したプライマリーhepatocyteを各種刺激 (IFN γ やsiRNA) した後、RNAを抽出した。
1000 ngのtotal RNAをcDNAに逆転写した後、反応液の1/25量をテンプレートとして使用した。(40 ngのtotalRNA由来のcDNA)

●試薬組成

<KAPA HiFi>

2×KAPA HiFi HotStart ReadyMix	12.5 μ L
Forward primer (10 μ M)	0.75 μ L
Reverse primer (10 μ M)	0.75 μ L
Template cDNA	2 μ L
PCR grade water	9 μ L
Total	25 μ L

<To社高正確性酵素>

DNAポリメラーゼ	0.5 μ L
2mM dNTP	2.5 μ L
10×PCR buffer	2.5 μ L
25mM MgSO ₄	1 μ L
Forward primer (10 μ M)	0.75 μ L
Reverse primer (10 μ M)	0.75 μ L
Template cDNA	2 μ L
PCR grade water	15 μ L
Total	25 μ L

●サイクルプログラム

<KAPA HiFi>

94°C	2min	} ×35cycle
94°C	20sec	
60°C	30sec	
72°C	90sec	
72°C	2min	

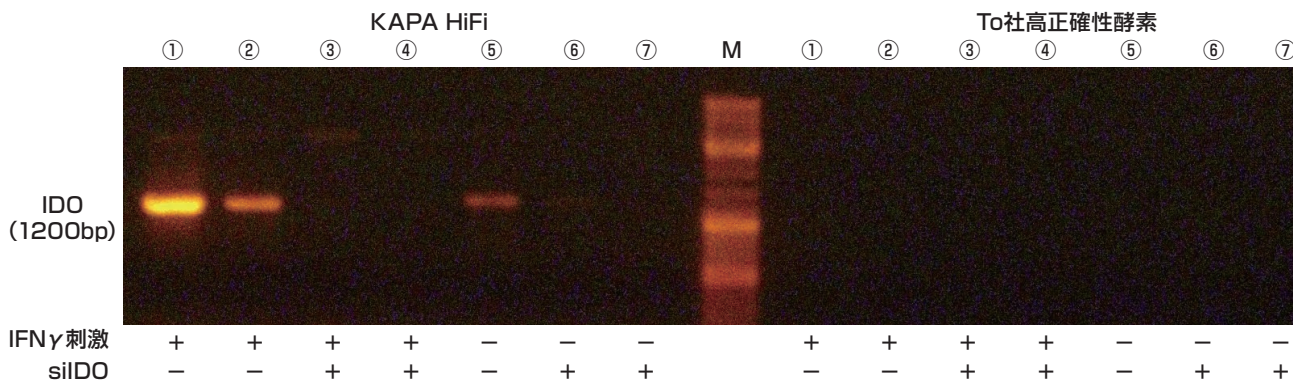
<To社高正確性酵素>

94°C	2min	} ×35cycle
94°C	20sec	
60°C	30sec	
68°C	90sec	
68°C	2min	

●増幅サイズ 1200bp

●使用 PCR 装置 : TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice standard

結果



IFN γ 誘導性のIDO (インドールアミン2,3 ジオキシゲナーゼ) をsiRNAによりノックダウンした効果について、PCRにて検証を行なった。
KAPA HiFi HotStart ReadyMixでは、IFN γ 誘導性IDOのバンドの検出、およびsiRNAのノックダウンによるバンドの消失が確認された。



ホームページを見て試しに使ってみました。酵素の違いでこれほど目的のPCR産物の出来具合が違うと思いませんでした。

お客様のコメント

