



Application

# シリカドライした葉から抽出した増幅困難な葉緑体DNAのPCR

製品名

KAPA2G Robust HotStart ReadyMix with Dye (KK5706)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、国立研究開発法人森林総合研究所 森林遺伝研究領域 生態遺伝研究室 鈴木節子様のご厚意により掲載させていただきました。

## 実験条件

今まで使用していた酵素は、生の葉から抽出したDNAでは安定的にPCR増幅を行うことができていましたが、シリカゲルドライした葉から抽出したDNAではPCR増幅が困難になりました。

そこで、「お客様からの製品フィードバック2013〈11〉」を読み、植物乾燥標本からのDNAからも増幅が得られることを知り、KAPA2G Robust HotStart ReadyMix with DyeによるPCR増幅を試みました。

DNA抽出方法：CTAB法

TA社とKAPA2G Robust HotStart ReadyMixの酵素を比較しました。

### ● TA社の反応組成

TA社酵素	0.05
10×Buffer	1
dNTP Mix	0.8
Primer Forward (2μM)	0.5
Primer Reverse (2μM)	0.5
D.W.	5.15
DNA	2
Total	10μl

### ● KAPA2G Robust HotStart ReadyMixの反応組成

2×KAPA	5
Primer Forward (10μM)	0.5
Primer Reverse (10μM)	0.5
D.W.	0
DNA	4
Total	10μl

### ● PCR 装置

ABI GeneAmp 9700

### ● 増幅サイズ

matK : 850bp

trnQ-rps16 : 1060bp

### ● TA社のPCRプログラム

94℃	3 : 00	} 40 cycle
94℃	0 : 30	
50℃	1 : 00	
72℃	1 : 30	
72℃	10 : 00	
4℃	forever	

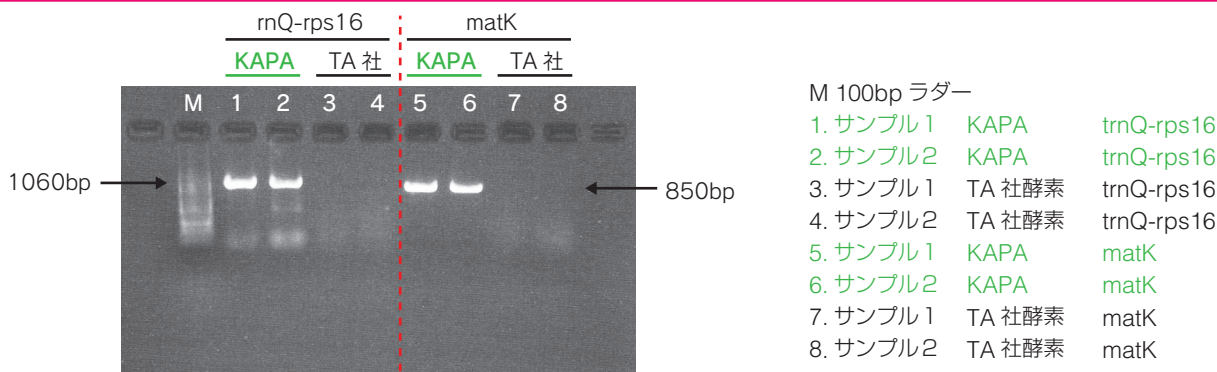
total反応時間：約2.5~3時間

### ● KAPA2G Robust HotStart ReadyMix PCRプログラム

<trnQ-rps16>		<matK>	
94℃	3 : 00	94℃	3 : 00
94℃	0 : 15	94℃	0 : 15
58℃	0 : 15	55℃	0 : 15
72℃	0 : 30	72℃	0 : 30
72℃	10 : 00	72℃	10 : 00
4℃	forever	4℃	forever

total反応時間：約1時間

## 結果



お客様のコメント

生の葉から抽出したDNAでは、どのようなTaqを用いてもうまく増幅できていたのですが、フィールドで採取直後にシリカゲルで急速乾燥した葉から抽出したDNAでは、増幅が見られなくなってしまいました。その時、KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (KK5706) の製品フィードバックを読み、乾燥標本のDNAからも増幅が得られることを知り、KAPA2G Robust HotStart ReadyMixを試してみました。KAPA社キットでは、その結果、見事に増幅に成功し、塩基配列も無事に得ることが出来ました。増幅が安定しているだけでなく、反応時間が短い(1時間くらい)ことも素晴らしいです。Dyeがはじめから入っているのでアガロースゲル電気泳動の際に便利でした。

