



Application

KAPA HiFi HotStart 酵素を用いた 少数T細胞（25～400個）からの遺伝子増幅

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、日本学術振興会特別研究員PD 大阪大谷大学薬学部免疫学講座 池淵 良洋 様のご厚意により掲載させていただきました。

方法

少数T細胞群の遺伝子配列を調べるため、T細胞溶解液からcDNAを合成し、PCRにより遺伝子の増幅を行った。

● サンプルの条件

Template	
No1	T細胞400個分のcDNA溶液
No2	T細胞100個分のcDNA溶液
No3	T細胞 25個分のcDNA溶液
No4	Negative Control (T細胞なし)

T細胞溶解液：0.2% TritonX-100

● PCR reaction mixture

<KAPA>	(μ L)
2×KAPA HiFi HotStart ReadyMix	7.5
Primer A	0.6
Primer B	0.6
DDW	2.3
Template	4
Total	15μL

<TO 社製品>	(μ L)
×10 PCR Buffer	1.5
2mM dNTPs	1.5
25mM MgSO ₄	0.9
Primer A	0.6
Primer B	0.6
ポリメラーゼ	0.3
DDW	5.6
Template	4
Total	15μL

<TA 社製品>	(μ L)
×10 PCR Buffer	1.5
×50 dNTP	0.3
Primer A	0.6
Primer B	0.6
ポリメラーゼ	0.3
DDW	7.7
Template	4
Total	15μL

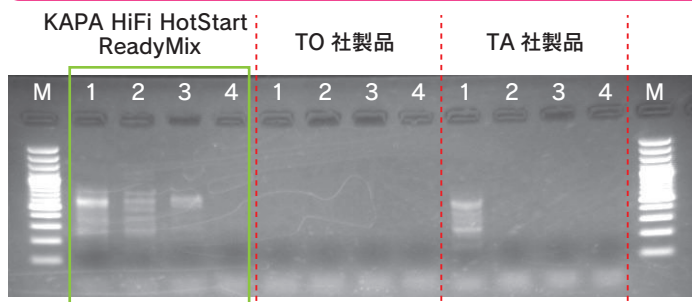
● PCR condition

<KAPA>	
98°C	3 min
98°C	20 sec
72°C	45 sec
98°C	20 sec
70°C	15 sec
72°C	45 sec
98°C	20 sec
68°C	15 sec
72°C	45 sec
72°C	5 min
4°C	∞

<TO 社製品>	
94°C	2 min
98°C	10 sec
72°C	45 sec
98°C	10 sec
70°C	45 sec
98°C	10 sec
68°C	45 sec
68°C	7 min
4°C	∞

<TA 社製品>	
95°C	30 sec
95°C	5 sec
72°C	120 sec
95°C	5 sec
70°C	10 sec
72°C	120 sec
95°C	5 sec
68°C	10 sec
72°C	120 sec
4°C	∞

結果



Template	
No1	T細胞400個分のcDNA溶液
No2	T細胞100個分のcDNA溶液
No3	T細胞 25個分のcDNA溶液
No4	Negative Control (T細胞なし)

KAPA社はT細胞25個由来cDNAを含む全てのサンプルから増幅できた。
TO社製品では全く増幅せず、また、TA社製品では400個由来cDNAのみ増幅した。



25個のT細胞由来cDNAから増幅できたこと、及び、他社製品に勝つとは驚きました。サンプルを頂いた甲斐があります、今後は本製品を使っていこうと思います。

お客様のコメント