



Application

HRM解析によるメダカのSNPsジェノタイピング

製品名

KAPA HRM Fast PCRキット

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、国内のお客様のご厚意により掲載させていただきました。

実験条件

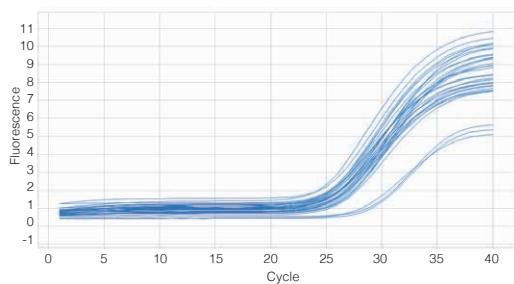
下記の条件でHRM解析によるメダカのSNPジェノタイピングを実施しました。
プライマーデザインはHRM用に設計された配列ではなく、現行のDNAシーケンス用に設計された配列を用いました。
(増幅サイズ310bpで、HRM解析用としては長いサイズ)

- サンプル : 粗精製メダカDNA (Tris-HCl pH8.5で10倍希釈)
- DNA抽出方法 : 組織サンプルをSDS、EDTA、Proteinase Kで溶解後、エタノール沈殿にてDNAを回収
- 増幅サイズ : 310bp
- 装置 : Illumina Eco Real-Time PCRシステム (アズワン株式会社)
- 試薬 : Kapa HRM Fast PCRキット
- 反応量 : 10μl / ウェル * マグネシウム濃度は1.5、2.5、4.0mMで最適条件を検討
- SNPジェノタイピング : C/T および G/A (Class I)
- サイクルプログラム :

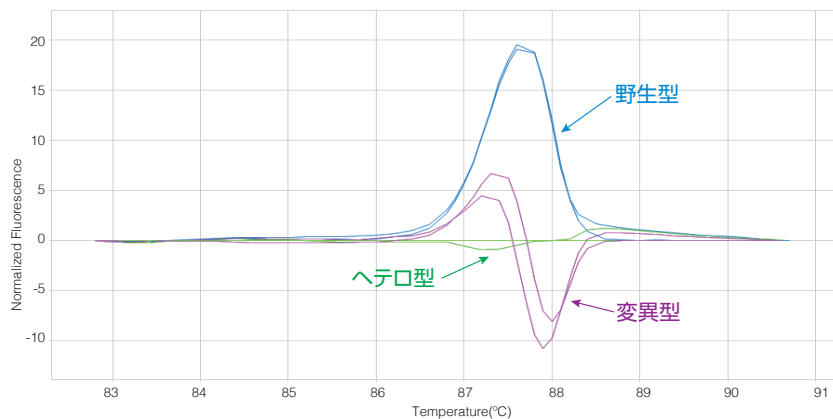
95°C	3min	
95°C	5sec	} 40 cycles
60°C	30sec	
95°C	15sec	} HRM解析
60°C-95°C	15sec	

結果

増幅曲線



解析データ



まとめ

310bpという比較的長いフラグメントでも、Kapa HRM Fast PCRキットとIllumina Eco Real-Time PCRシステム (アズワン株式会社) の組み合わせで解析可能でした。