



Application

MyTaq™ Extract-PCR Kitを用いた マウスジェノタイピング解析

製品名

MyTaq™ Extract-PCR Kit (Cat.No. BIO-21126)

メーカー名

meridian BIOSCIENCE

本データは、大阪公立大学 大学院医学研究科 分子病態薬理学教室 本間拓二郎様のご厚意により掲載させていただきました。

実験概要

マウスでのジェノタイピングは、日常で行われることが多い操作であり、ジェノタイピングには、耳や尻尾からのDNAを抽出して行うことが主流です。

DNA抽出は、通常、サンプルはプロテイナーゼKとともに数時間または一晩インキュベート後、精製を行います。このプロトコルは、より高いDNA濃度と品質の抽出物を生成しますが、手間と時間がかかります。

本アプリケーションで使用したMyTaq™ Extract-PCR kitは、プロテイナーゼKを使用したDNA抽出でありながら、DNA抽出からPCRまで最速120分で完了するキットとなります。また、必要な試薬がすべてセットとなっており、簡単に操作を行うことが可能となっております。

本アプリケーションノートでは、野生型マウスおよび遺伝子改変マウスの尾(約2 mm)からMyTaq™ Extract-PCR Kitを用いてDNAを抽出後、添付の酵素を用いてPCR反応を行い、増幅するか確認を行いました。

MyTaq™ Extract-PCR Kitの操作と必要時間

従来

1. プロテイナーゼKを含むバッファーに組織を入れ、55℃にてOver Nightでインキュベート
2. フェノールを入れ、5分間Mixし上清を回収
3. クロロホルムを入れ、5分間Mixし上清を回収
4. 10分間室温にて遠心
5. イソプロパノールを入れMix
6. 10分間室温にて遠心
7. 上清を捨て、70%エタノールを入れる
8. 5分間室温にて遠心
9. 上清を捨て、乾燥させる
10. TEバッファーを入れ、溶解する

約9時間～

PCR+電気泳動

キット

1. Buffer A、Buffer B、ddH₂Oを混合したものに組織を入れ、75℃、5分間*インキュベート
*インキュベートは10分まで延長可能
2. 95℃、10分間インキュベート
3. 1分間遠心

約15分～

PCR+電気泳動

MyTaq™ Extract-PCR Kitを使用することで、大幅に操作時間を短縮できる

実験方法

- 使用試薬
MyTaq™ Extract-PCR Kit (meridian BIOSCIENCE / Cat.No. BIO-21126)
- サンプル
野生型マウスの尾 2 mm 程度
遺伝子改変型マウスの尾 2 mm 程度
- 使用機器
PCR装置
Mupid-2x (株式会社ムービッド / Cat.No. AD115)
- 抽出方法
 1. 尾を反応溶液 (Buffer A 20 μL, Buffer B 10 μL, ddH₂O 70 μL) 中で75℃、10分間反応させた (3分ごとに攪拌した)。
 2. 95℃で10分間反応させた。
 3. 15,000 × gで1分間遠心した。
 4. 上清を新しい1.5 mLチューブに回収した。



- PCR

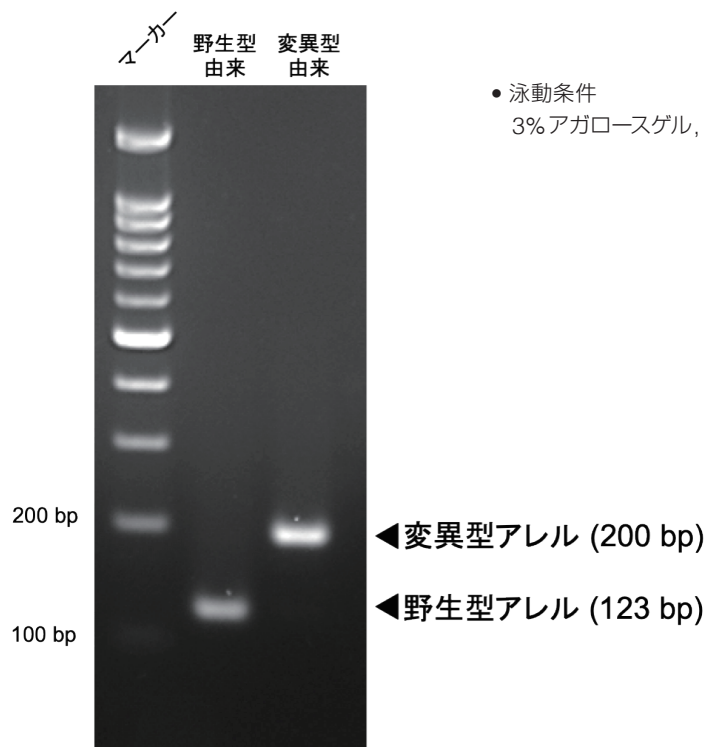
反応組成

	Final Con.
DW	6.5 μ L
Master Mix (2x)	12.5 μ L
野生型アレル検出用 primer set (Forward & Reverse)	2.5 μ L 各 0.5 μ M
変異型アレル検出用 primer set (Forward & Reverse)	2.5 μ L 各 0.5 μ M
Template	1 μ L 抽出したDNAをTE bufferにて2倍希釈したもの
Total	25 μ L

反応プログラム

	Time		
Pre-incubation	95 $^{\circ}$ C	180 sec	
	95 $^{\circ}$ C	15 sec	
Amplification	62 $^{\circ}$ C	30 sec	×35 cycles
	72 $^{\circ}$ C	20 sec	

結果



- 泳動条件

3% アガロースゲル, 50V, 40分 (装置 Mupid-2x)

- まとめ

MyTaq™ Extract-PCR Kitを用いてマウス尾からDNAを抽出し、添付の酵素を用いて野生型および変異型アレルの識別に成功した。



お客様のコメント

操作も簡便で、迅速に結果を得ることが出来るため、有用な試薬である。