



Application

ダイレクトPCRによる形質転換タバコBY-2細胞塊 (カルス) からの目的遺伝子導入クローンの選抜

製品名

KAPA3G Plant PCRキット

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 植物代謝制御研究室様のご厚意により掲載させて頂きました。

実験条件

従来法

トータル約100分 (前処理約15分、PCR約85分)

前処理: A社抽出試薬

DNA抽出 約15分

A社抽出試薬 100μl

タバコBY-2細胞塊 (カルス) 小片 (2-3mm) を加えボルテックス

100℃ 10min

室温 2min

遠心 13,000rpm, 3min, RT

上清をPCRへ使用

KAPA3G Plant PCRキット

トータル約60分 (前処理約2分、PCR約60分)

前処理: KAPA3G Plant PCRキットのプロトコルに準じ、 約2分 “難易度が高いサンプル用の前処理” を試しました。

希釈バッファー*50μl

* (50 mM Tris-HCl (pH8.0)
0.1mM EDTA (pH8.0)
0.2×KAPA Plant PCR enhancer)

タバコBY-2細胞塊 (カルス) 小片 (2-3mm) をかき取り、そのまま漬すように懸濁

遠心 13,000rpm, 2min, RT

上清5μl (ゲノムDNA抽出液) をPCRへ使用

PCR 約85分

T社PCR試薬

<PCR反応>

94℃	2min
94℃	30sec
58℃	30sec
72℃	1min
72℃	2min
4℃	∞

×40サイクル

PCR 約60分

KAPA3G Plant PCRキット

<PCR反応液組成>

ゲノムDNA抽出液	5.0
2×KAPA Plant PCR Buffer	12.5
10μM Forward Primer	0.75
10μM Reverse Primer	0.75
KAPA3G Plant DNA 酵素	0.2
DW	5.8
Total	20μl

<PCR反応>

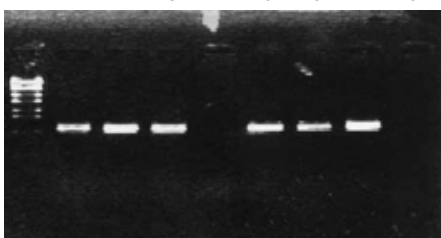
95℃	5min
95℃	30sec
56℃	15sec
72℃	30sec
72℃	2min
4℃	∞

×40サイクル

結果

KAPA3G Plant PCRキットによるPCR結果

M 1 2 3 4 5 6 7 8



M マーカー(λ/StyI)

1-8 Sample (1-3, 5-7 がポジティブ)
(4, 8 がネガティブ)

電気泳動条件

1%アガロースゲル, 100V, 20分
各反応液5μlをアプライ

— 1030bp



お客様のコメント

従来法ではトータルの処理時間は約100分を要していた。これに対して、KAPAでは約60分で処理を行える。結果、目的の遺伝子を保持した形質転換BY-2を、簡便に選抜することができた。