



Application

KAPA3G Plantを用いたイネいもち病菌の QOI※薬剤耐性菌検定

製品名

KAPA3G Plant PCRキット(Cat.No. KK7251, KK7252)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、秋田県立大学 生物資源科学部 生物生産科学科 植物保護学研究室 藤 晋一様のご厚意により掲載させていただきました。

※QOI : Quinone outside inhibitor ストロビルリン系薬剤

実験条件

従来法 前処理約90分、PCR約90分

前処理: DNA抽出

- 1) 液体培地で培養した菌体をチューブに入れる。
- 2) 金属クラッシャーを入れ、チューブのふたを閉める。
- 3) チューブを液体窒素中に入れ、凍結
- 4) 凍結したチューブを取り出し、バグクラッシャーのローターにセット
- 5) MIXINGモードLAで10秒間攪拌運転
- 6) チューブを取り出し、粉末状になっていることを確認
- 7) チューブに300μL PEX溶液を添加
- 8) チューブをバグクラッシャーのローターにセットし、攪拌
- 9) 60℃で30分間静置
- 10) 15,000rpm 5分室温で遠心
- 11) 上清160μLと400μLのエタノールを加え、混合
- 12) 15,000rpm 5分室温で遠心し回収
- 13) 70%エタノールで洗浄した後、乾燥し、100μLのSDWに溶解

PCR 市販のPCR試薬でPCR

KAPA3G Plant PCRキット

前処理約1分、PCR約90分



1. サンプルを切り取る 2. サンプルをPCRチューブに入れる

PCR KAPA3G Plant PCRキット

<反応組成>

2×PCR buffer	25μL
Primer KES415 (20μM)	0.75μL
Primer KES416 (20μM)	0.75μL
DNA Polymerase	0.4μL
SDW	23.1μL

<プログラム>

95℃	10min	} 40サイクル
94℃	15sec	
60℃	30sec	
72℃	30sec	
72℃	5min	

3. 反応液をPCRチューブに入れPCR

結果

制限酵素処理

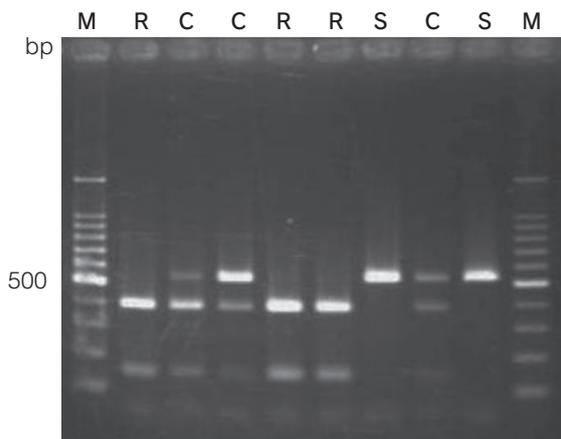
制限酵素処理 (10サンプルあたり)

反応試薬	液量
10×buffer	10μL
Fnu4HI	1μL
SDW	69μL

8μL+ PCR産物 2μL

37℃ 4hr

5μL 電気泳動



QOI検定の2%アガロースゲル電気泳動

M : 100 base pair ladder
S : 感受性菌 43/528bp
R : 耐性菌 43/144/384bp
C : キメラ



お客様のコメント

これまで、罹病植物から分離した菌体あるいは菌体DNAを用いてQOI検定を行う必要があった、しかしながら、KAPA3G Plant PCR Kitを使用することで、菌を分離すること無くQOI検定ができ、多検体の効率的な検定と、菌の分離が困難なサンプルの検定が可能となった。加えて、感受性菌と耐性菌が混在したサンプルからもキメラとして検出することができるため、耐性菌の密度が低い圃場からも、早期に検出できる極めて有効な方法であった。