

**タイトル:** バイサルファイト処理を行ったHeLaゲノムDNAを鋳型としたPCR増幅

**カテゴリ:** エピジェネティクス

**キーワード:** PCR, バイサルファイト、bisulfite-treated

**データソース:** タカラバイオ株式会社

**方法:**

MethylEasy™ Xceed Rapid DNA Bisulphite Modification Kit (製品コード [ME002](#)) でバイサルファイト処理したHeLaゲノムDNAを鋳型として、TaKaRa EpiTaq™ HS (for bisulfite-treated DNA) (製品コード [R110A](#)) を用いて各ターゲットのPCR増幅を行った。

**ターゲット:** *CDH1*、*MLH1*、*BRCA1* gene 上流のCpG アイランド領域

**増幅サイズ:** 153 bp (*CDH1*)、297 bp (*CDH1*)、136 bp (*MLH1*)、292 bp (*MLH1*)、613 bp (*BRCA1*)、1,017 bp (*BRCA1*)

<反応液組成>

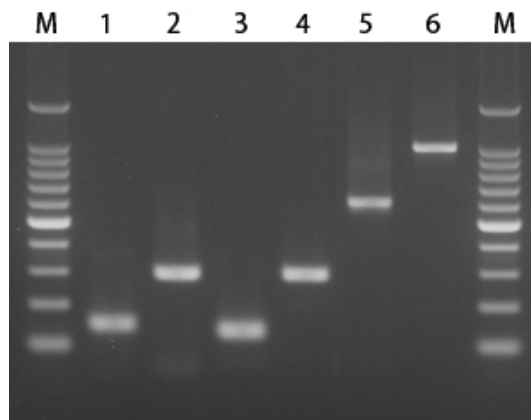
	液量	終濃度
バイサルファイト処理HeLa ゲノムDNA (50 ng/μl)	2 μl	100 ng / 50 μl
10×EpiTaq™ PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	5 μl	1 ×
25 mM MgCl <sub>2</sub>	5 μl	2.5 mM
dNTP Mixture (各2.5 mM)	6 μl	0.3 mM
Sense Primer (20 μM)	1 μl	0.4 μM
Antisense Primer (20 μM)	1 μl	0.4 μM
TaKaRa EpiTaq™ HS (5 U/μl)	0.25 μl	1.25 U / 50 μl
滅菌蒸留水	up to 50 μl	

<PCR条件>

98°C	10 sec.	} 40 cycles
55°C	30 sec.	
72°C	30 sec./~500 bp	
	1 min./500 bp~	

**結果:**

1 kbを越えるターゲットを含め、各領域で良好な増幅が確認できた。



レーン: 増幅サイズ

- 1: 153 bp (*CDH1*)
- 2: 297 bp (*CDH1*)
- 3: 136 bp (*MLH1*)
- 4: 292 bp (*MLH1*)
- 5: 613 bp (*BRCA1*)
- 6: 1,017 bp (*BRCA1*)
- M: 100 bp DNA Ladder

**アガロース** Agarose L03 「TAKARA」 (製品コード [5003](#))

**ゲル濃度** 2%

**染色法** エチジウムブロマイド染色

**備考:**

[http://catalog.takara-bio.co.jp/product/tech\\_info\\_detail2.asp?unitid=U100006895&masterid=M100005391](http://catalog.takara-bio.co.jp/product/tech_info_detail2.asp?unitid=U100006895&masterid=M100005391)