

タイトル:各社PCR酵素を用いたバイサルファイト処理DNAの増幅

カテゴリ: エピジェネティクス

キーワード: PCR, バィサルファイト、bisulfite-treated、DNAメチル化

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](#))ほか各社PCR酵素*で増幅した。

ターゲット: *CDKN2A*、*BRCA1* gene 上流のCpG アイランド領域

増幅サイズ: 144 bp (*CDKN2A*) 1,017 bp (*BRCA1*)

<TaKaRa EpiTaq™ HS 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 ²⁺ free)	5 μl	1 ×
25 mM MgCl ₂	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	

<TaKaRa EpiTaq™ HSのPCR条件>

98°C	10 sec.	} 40 cycles
55°C	30 sec.	
72°C	30 sec.(144 bp) or 1 min.(1,017 bp)	

*各社PCR酵素: バィサルファイト処理DNAの増幅での使用を推奨している酵素。各社の反応条件に従い実施。

結果: TaKaRa EpiTaq™ HSで最も良好な増幅が確認できた。

CDKN2A (144 bp)

BRCA1 (1,017 bp)

レーン



- 1: TaKaRa EpiTaq™ HS
- 2: TaKaRa Taq™ HS
- 3: A社PCR酵素*
- 4: B社PCR酵素*
- 5: C社PCR酵素*
- 6: D社PCR酵素*
- 7: E社PCR酵素*

M: 100 bp DNA Ladder

各5 μlアプライ

備考:

http://catalog.takara-bio.co.jp/product/tech_info_detail2.asp?unitid=U100006895&masterid=M100005415