

## タイトル: ヒトゲノムDNAを鋳型としたさまざまなターゲットの増幅

カテゴリ: PCR

キーワード: Dye入りプレミックス試薬、高速PCR

データソース: タカラバイオ株式会社

### 方法:

SapphireAmp® Fast PCR Master Mix ([製品コード RR350](#))を用い、ヒトゲノムのさまざまな領域で0.5~6 kbの増幅を行った。

鋳型	ヒトゲノムDNA (100 ng/50 µl反応系)
ターゲット (増幅鎖長)	P53 (0.5 kb、4.2 kb)、FFAR2(1.0 kb)、 DCLRE1A(2.0 kb)、IGF2R(5.9 kb)
装置	TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient (Model 1 で使用)

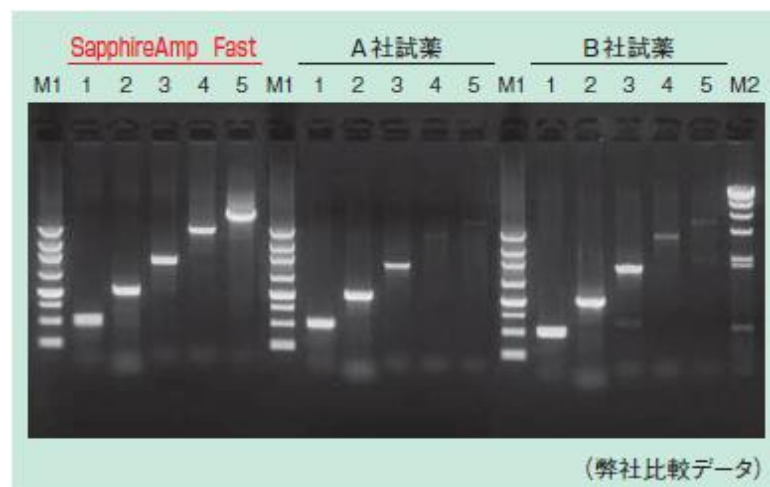
増幅鎖長0.5~2.0 kb	増幅鎖長4.2 kb、5.9 kb
94°C 1分	94°C 1分
↓	↓
98°C 5秒	98°C 5秒
55°C 5秒	68°C 30秒/kb
72°C 10秒/kb	
} 30サイクル	

### 結果:

他社と反応時間を比べた結果、SapphireAmp® Fast PCR Master Mixの反応時間は、約1/4~1/2であり(表1)、大幅に時間を短縮できた。また、各増幅鎖長において、良好な増幅を確認できた。

増幅鎖長	SapphireAmp® Fast	A社試薬	B社試薬
0.5 kb	50分	1時間35分	1時間30分
1 kb	55分	1時間50分	1時間45分
2 kb	1時間	2時間20分	2時間15分
4 kb	1時間30分	3時間20分	3時間15分
6 kb	2時間	4時間20分	4時間15分

表1



(弊社比較データ)

1% Agarose LO3「TAKARA」([製品コード 5003](#))  
反応液5 µlをアプライ

ターゲット遺伝子	増幅鎖長	GC含量
レーン1: p53	0.5 kb	54%
2: FFAR2	1.0 kb	59%
3: DCLRE1A	2.0 kb	38%
4: p53	4.2 kb	48%
5: IGF2R	5.9 kb	50%
M1: 250bp DNA Ladder		
		( <a href="#">製品コード 3424A</a> )
M2: λ-Hind III digest		
		( <a href="#">製品コード 3403</a> )

### 備考:

250 bp DNA Ladder (Dye Plus) ([製品コード3424A](#))、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient ([製品コード TP600](#))、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Standard ([製品コード TP650](#))、EmeraldAmp® PCR Master Mix ([製品コード RR300](#))