

PCR のプロトコール

実験機器および器具

- サーマルサイクラー (ASTEC PC-808)
- Thermo-Fast 96, Low Profile (ABgene, AB-0700)
- Domed Cap Strip (ABgene, AB-0602)

試薬

- プライマー
- 鋳型 DNA 溶液 (20ng/μL)
- 10×NH₄ reaction buffer (BIOLINE)
- 50mM MgCl₂ (BIOLINE)
- 10mM dNTPs (BIOLINE)
- BIOTAQ™ DNA Polymerase (BIOLINE)

1. 以下の組成で試薬を調整する。

試薬	1 検体あたり (25 μL 系)	(最終濃度)
H ₂ O	15.625 μL	—
10×NH ₄ reaction buffer	2.5 μL	—
50mM MgCl ₂	0.75 μL	(1.5mM)
10mM dNTPs	0.5 μL	(0.2mM)
20 μM Primer-1	0.25 μL	(0.2 μM)
20 μM Primer-2	0.25 μL	(0.2 μM)
BIOTAQ™ DNA Polymerase	0.125 μL	(2.5U/100 μL)
鋳型 DNA 溶液	5 μL	(100ng)
Total	25 μL	

2. 反応溶液が乾燥しないようにキャップをしっかりとめて PCR 反応を行う。

3. サイクル条件を設定する

例 (94°C : 30sec, 55°C : 1min, 72°C : 45sec) 35 サイクル

4. PCR 産物 10 μL をアガロースゲルで電気泳動を行い、目的の断片が増幅されているかをチェックする。

参考文献

- (1) 細胞工学 別冊 バイオ実験イラストレイテッド (秀潤社)
- (2) 細胞工学 別冊 *PCR Tips* (秀潤社)
- (3) ナカライテスク 総合カタログ (ナカライテスク)

2008/04/25 Nakanishi