

実験動物用マーカー遺伝子検出キット

Marker Gene Detection Kit

NEW

遺伝子改変動物に使用頻度の高い9種類のマーカー遺伝子をマルチプレックスPCRで検出

再現性の高い動物実験を行うには、実験に使用する動物の遺伝子的な情報を正確に把握しておくことが重要です。本製品は、理化学研究所バイオリソースセンターにて開発された遺伝子組換え系統の交雑による意図しない遺伝的汚染を検出する方法^{*1,2}を遺伝子組換え動物の利用者が誰でも簡単に実施できるようにしたキットです。

遺伝子改変動物に導入頻度が高い9種類の代表的なマーカー遺伝子をマルチプレックスPCRにて増幅し、電気泳動にて各マーカー遺伝子の有無を判定することができます。



特長1 さまざまなサンプルから高効率に検出

高効率・高成功率PCR酵素「KOD FX Neo」(p.4掲載)を使用しているため、表1に示すように精製ゲノムDNAに加え、マウス尾(テール)・耳をアルカリ溶解法により簡易調製したライセートや、細胞懸濁液をそのままテンプレートとして用いることが可能です。マウス・ラット・ヒトにおいては内部標準(IC)としてトランスフェリンレセプター遺伝子を検出するよう設計されています。

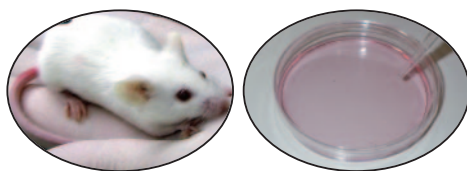


表1. 使用可能な動物、サンプルおよびテンプレート

動物種	サンプル	テンプレート
マウス・ラット	尾(テール)・耳	ライセート
	培養細胞	細胞懸濁液、精製DNA
	血液・さまざまな組織等	精製DNA
ヒト	培養細胞	細胞懸濁液、精製DNA

特長2 9種類のマーカー遺伝子を同時に検出

マルチプレックスPCRにより遺伝子改変動物に使用頻度の高い9種類のマーカー遺伝子(表2)をマルチプレックスPCRにて同時に検出することが可能です。

本キットにはPrimer Set 1とPrimer Set 2が含まれており、目的により標準とハイスルーブットの2種類のプロトコルを選択して検出できます。標準プロトコルではPrimer Set 1、2で別々にPCRを行い、ハイスルーブットプロトコルではPrimer Set 1、2を同時に使用し、ICを含む10種類すべての検出対象遺伝子を検出します。

表2. 検出対象遺伝子

遺伝子名	略称	備考	対象配列	Primer Set
トランスフェリンレセプター遺伝子	Tfrc (IC)	内部標準 (Internal Control)	NM_011638	1, 2
βガラクトシダーゼ遺伝子	lacZ	レポーター遺伝子	NC_011750	1
フリッパーゼ遺伝子	flp	組み換え酵素	U46493	2
Creリコンビナーゼ遺伝子	cre	組み換え酵素	NC_005856	1
ハイグロマイシン耐性遺伝子	hyg	薬剤耐性遺伝子	V01499	2
ネオマイシン耐性遺伝子	neo	薬剤耐性遺伝子	NC_008460	1
GFP (Green fluorescence protein)	GFP	蛍光タンパク質	U55763	2
Cas9 (CRISPR associated protein 9)	cas9	切断酵素	*3	1
ピューロマイシン耐性遺伝子	puro	薬剤耐性遺伝子	M25346	2
IRES (Internal Ribosome Entry Site)	IRES	リボソーム進入部位	X74312	1

* マウス、ラット、ヒト以外の動物種では内部標準(IC)に使用しているトランスフェリンレセプター遺伝子は検出されませんが、基本的に表2記載の遺伝子を検出することは可能です。

特長3 容易に判別が可能

本キットには特長2記載の検出対象のマーカ―遺伝子9種類と内部標準(IC)のDNA断片を含むControl templateが付属されています。

ポジティブコントロールとしてサンプルを同時に増幅させることで、電気泳動した際にバンドサイズを確認しやすく、判別が容易になります。

実施例 マウステールライセートを用いたマーカ―遺伝子の検出

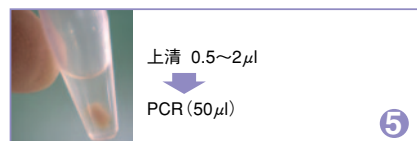
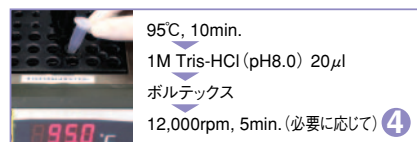
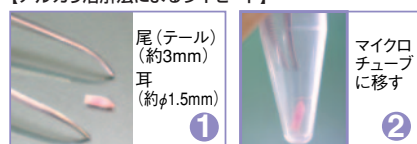
標準プロトコールとハイスループットプロトコールを使用し、下記の4系統のマウステールライセートを用いてマーカ―遺伝子の検出を行いました。マウステールライセートはアルカリ溶解法により調製し、テンプレートとして1μl 使用しました。

その結果、アルカリ溶解法によるライセートから矛盾なく4系統に使用されているマーカ―遺伝子を検出することができました。

【解析したマウスの系統】

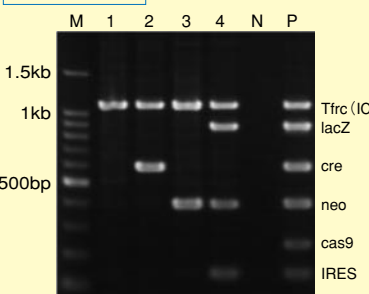
マウス系統	マーカ―遺伝子
系統1	—
系統2	cre, GFP
系統3	hyg, neo, GFP
系統4	lacZ, neo, IRES

【アルカリ溶解法によるライセート】

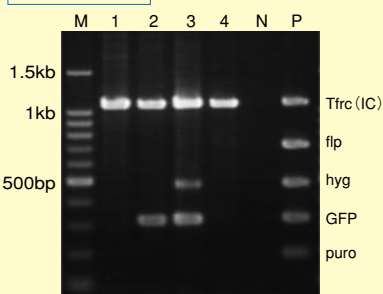


①標準プロトコールを用いた解析結果 (検出対象遺伝子を2つに分けて解析しました)

Primer Set 1

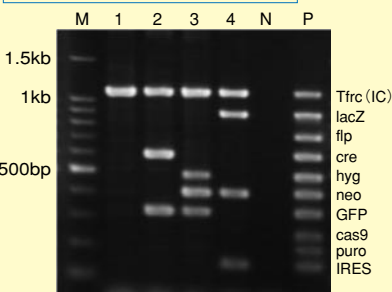


Primer Set 2



②ハイスループットプロトコールを用いた解析結果 (検出対象を一度に解析しました)

Primer Set 1 + Primer Set 2



M: 分子量マーカー
1: 系統1
2: 系統2
3: 系統3
4: 系統4
N: ネガティブコントロール
P: ポジティブコントロール (Control templateを使用)

文献

- *1 Nakata H *et al.*, *Exp. Anim.*, **58**: 437-442 (2009)
- *2 吉木 淳, *動物実験技術*: 第49巻1号35-40 (2014)
- *3 Cong L *et al.*, *Science*, **339**(6121): 819-23 (2013)

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
Marker Gene Detection Kit ・ Primer and Control template Primer Set 1 Primer Set 2 Control template ・ KOD FX Neo* KOD FX Neo (1.0U/μl) 2×PCR Buffer for KOD FX Neo dNTP Mixture (2mM)	1セット (200反応用**)	-20℃	MGK-101	¥82,000

*KOD FX Neo (Code: KFX-201) が1セット含まれます。

**50μl反応を行った時の反応回数で表示しています。