

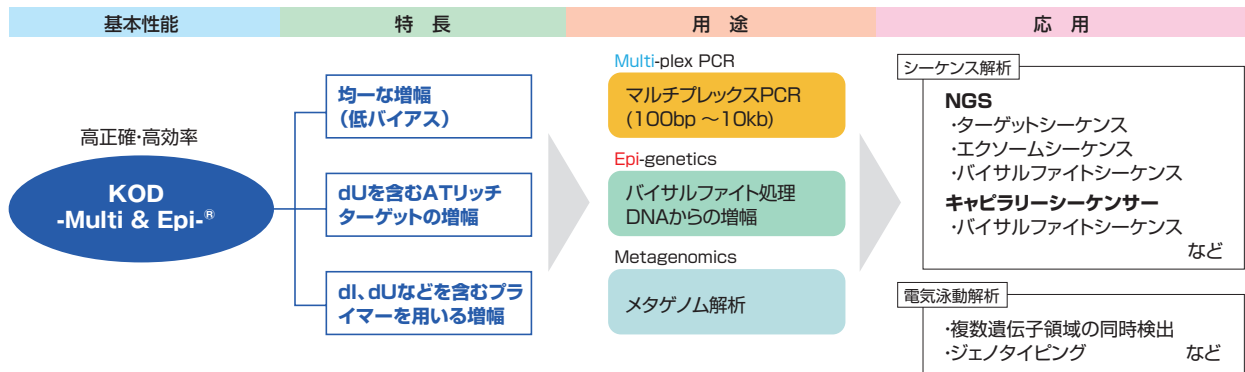
HOT ITEM

マルチプレックスPCR・バイサルファイト処理DNA用 高正確性PCR酵素 KOD -Multi & Epi-[®]

特異的かつ均一なマルチプレックスPCRおよびバイサルファイト処理DNAの増幅に最適

KOD -Multi & Epi-[®] は、遺伝子改変型KOD DNA ポリメラーゼ (UKOD) を用いて開発された高正確性PCR用酵素です。ポリメラーゼの改変により、今まで困難だったウラシルを多く含む鋳型やイノシンを含むプライマーなどを用いることができるようになりました。更に、伸長アクセラレーター等の添加により、伸長性が向上することで配列や増幅サイズなどによる増幅バイアスを受けにくくなりました。

よって、KOD -Multi & Epi-[®]は、マルチプレックスPCRやバイサルファイト処理後のDNAの増幅(エピジェネティクス解析)、メタゲノム解析など様々な用途に用いることが可能です。また、本酵素はTaq DNA ポリメラーゼの約11倍の正確性を示すため、得られた増幅産物はクローニングを介した従来のシーケンス解析や次世代シーケンスなどに幅広く用いることが可能です。



特長1 均一な増幅 (低バイアス)

1kb以下の短鎖のターゲットから10kb前後の長鎖のターゲットまでの幅広い範囲で特異的かつ均一なマルチプレックスPCRを行うことができます。GCの偏りによる増幅への影響を最小限に抑えており、ゲノムやトランスクリプトームの様々な領域を均一に増幅することが可能です。

この特性を生かし、次世代シーケンサー解析に使用する増幅産物の調製にも使用することができます。

特長2 ウラシルを多く含むDNAからの増幅

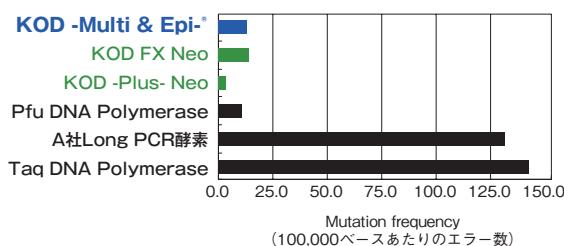
バイサルファイト処理後のウラシルを多く含むDNAから高い効率で増幅を行うことができます。最大で約1.5kbの増幅を確認しています。

特長3 イノシンやウラシルを含むプライマーに対応

従来の高正確性PCR酵素では、イノシンやウラシルを含むプライマーを用いる解析が困難でしたが、KOD -Multi & Epi-[®]はそれらのプライマーを用いて解析することができます。

特長4 高正確性

Taq DNA ポリメラーゼの約11倍の正確性(KOD FX Neoと同等)を示し、増幅産物を様々な用途に用いることができます。



*PCRエラー率は、各酵素にてヒトゲノムDNAを鋳型にβ-globin遺伝子(2.4kb)の増幅を行い、PCR産物をTAクローニング後、96クローンをシーケンシング解析し、測定しました。

特長5 クルードサンプルに対応

クルードサンプルの影響を受けにくく、血液検体を用いたマルチプレックスPCRの他、動植物のライセートからのジェノタイピングや土壌、食品サンプルなどからの増幅などにも用いることが可能です。

特長6 高効率

伸長アクセラレーターを添加することでPCR効率が向上し、シングルプレックスPCRでは伸長時間を最短で15sec./kbまで短縮することが可能です。

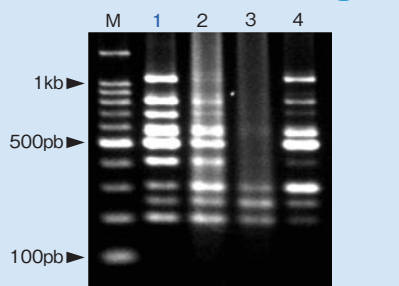
※クルードサンプルやバイサルファイト処理を行ったDNAサンプルを用いる場合や長鎖のマルチプレックスPCRを行う場合は、効率を優先するため30~60sec./kbを推奨する場合があります。詳しくは取扱説明書をご覧ください。

実施例 マルチプレックスPCR性能比較

精製したヒトゲノムDNAおよび血液サンプルを用いて、1kb以下、および1~10kbの複数のターゲットを様々なPCR酵素でマルチプレックスPCRを行い性能を比較しました(50μl反応系)。その結果、KOD -Multi & Epi[®]を用いた場合のみ、すべての条件でバイアスの少ない良好な結果を得ることができました。KOD -Multi & Epi[®]は、血液成分の阻害をうけにくく、精製ゲノムDNAからの増幅と同様にバイアスの少ない増幅結果を示しました。

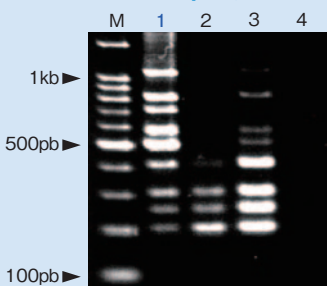
マルチプレックスPCR (短鎖:1kb以下)

●精製ゲノムDNA (精製ヒトゲノムDNA 50ng使用)



【PCRサイクル条件】
94℃, 2 min.
98℃, 10 sec. ← 25 cycles
60℃, 30 sec.
68℃, 15 sec.
4℃, hold

●血液サンプル (血液 2.5μl使用)



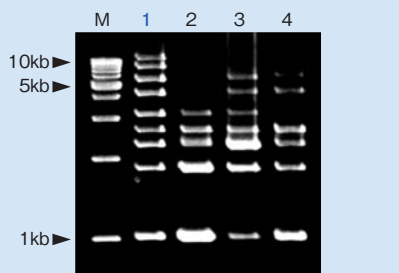
【PCRサイクル条件】
94℃, 2 min.
98℃, 10 sec. ← 25 cycles
60℃, 30 sec.
68℃, 60 sec.
4℃, hold

M 100bp DNA Ladder
1. KOD -Multi & Epi[®]
2. B社Multiplex PCR酵素
3. A社Taq系PCR酵素
4. A社Long PCR酵素

1kb以下ターゲット (増幅長)
DDB2 (200 bp), FANCG (250 bp), HBg (300 bp),
CDH1 (400 bp), chromosome9 (500 bp), ERCC4 (550 bp),
HRAS (600 bp), PRF1 (700 bp), BRCA1 (800 bp),
CDK4 (1,000 bp)

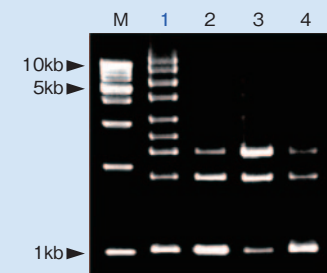
マルチプレックスPCR (長鎖:1~10kb)

●精製ゲノムDNA (精製ヒトゲノムDNA 50ng使用)



【PCRサイクル条件】
94℃, 2 min.
98℃, 10 sec. ← 25 cycles
68℃, 5 min.
4℃, hold

●血液サンプル (血液 2.5μl使用)



【PCRサイクル条件】
94℃, 2 min.
98℃, 10 sec. ← 25 cycles
68℃, 10 min.
4℃, hold

M 1kb DNA Ladder
1. KOD -Multi & Epi[®]
2. C社Multiplex PCR酵素
3. D社高正確性PCR酵素
4. A社高正確性PCR酵素

1~10kbターゲット (増幅長) <ガン関連遺伝子>
Chrome9 (1 kb), MSH6 (1.8 kb), BRCA2 (2.3 kb),
WT-1 (2.5 kb), FANCF (3 kb), RAD51D (4 kb),
KRAS (5 kb), BRCA1 (7 kb), DDB2 (10 kb)

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
マルチプレックスPCR・バイサルファイト処理DNA用高正確性PCR酵素 KOD -Multi & Epi [®] ・KOD -Multi & Epi [®] (1.0U/μl) ・2×PCR Buffer for KOD -Multi & Epi [®]	200U×1本 [200回用]	-20℃	KME-101	¥35,000
	(200U×1本)×5 [1,000回用]	-20℃	KME-101X5	¥140,000
	(200U×1本)×10 [2,000回用]	-20℃	KME-101X10	¥260,000

*50μl反応を行った時の反応回数で表示しています。

※2×PCR Buffer for KOD -Multi & Epi[®]にはdNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) およびMg²⁺ (終濃度2.0mM) が含まれています。