

クールドサンプルからの
PCR増幅に最適!

MightyAmp® シリーズ

MightyAmp® DNA Polymeraseは、反応性を追求して開発されたPCR酵素であり、通常のPCR酵素では増幅が困難な阻害物質を多く含むクールドなサンプルからでも良好に増幅できるホットスタートPCR酵素です。特に2 kb程度までの短鎖の増幅において究極の反応性を示し、GCリッチ、ATリッチを問わず、広範囲なターゲットに対して、少量の鋳型からでも効率よくPCR増幅可能です。

MightyAmp®シリーズの製品は、この酵素をベースに、**各種サンプルや使い方にあわせて、簡便な操作で最高の結果が得られるように至適化**された製品群です。

MightyAmp® DNA Polymerase Ver.2

製品コード R071A 250 U(200回) ¥30,000

ダイレクトPCRにおススメ!

抽出操作不要のスタンダード酵素

MightyAmp® for Card

製品コード R072A 200回 ¥38,000

FTA®カードや採血ろ紙から直接PCR可能な専用酵素

MightyAmp® for FFPE

製品コード R073A 40回 ¥20,000

ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片から簡便にDNA抽出～PCR増幅可能な専用酵素

MightyAmp® Genotyping Kit

製品コード R074A 200回 ¥50,000

マウス尾、植物葉、コメ、魚肉、土、糞便など
広範なサンプルに対応したタイピングキット

MightyAmp® Genotyping Kit

★マウス尾などの組織サンプルから、簡単な操作で、PCR増幅による遺伝子型判定が可能!

【操作の概略】

組織試料

抽出バッファー*(100 μl)とProteinase K*を添加

60°C 5分、98°C 2分処理後、低速遠心

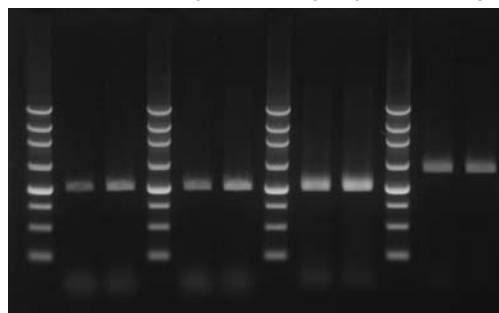
抽出上清

上清の一部をPCR反応系(50 μl)に加えてPCR増幅(30 cycle)

反応液4 μlにLoading Dye*を加え、アガロースゲル電気泳動分析へ

多検体処理に最適!

M 1 2 M 3 4 M 5 6 M 7 8



【上清使用量】
奇数レーン：1 μl
偶数レーン：2 μl

1% L03使用

M : 250 bp DNA Ladder

【組織試料とターゲット】

レーン 1, 2 : マウス尾(1~2 mm)、Ywhaz遺伝子(約1 kb)
3, 4 : マウス耳(1.2 mm角)、Ywhaz遺伝子(約1 kb)
5, 6 : トマト葉片(φ2 mm)、cox1遺伝子(約1 kb)
7, 8 : 精米粒(1粒)、rbcL遺伝子(約1.3 kb)

*本キットに含まれています。

抽出バッファー100 μlに持ち込み可能な組織サンプル量の目安

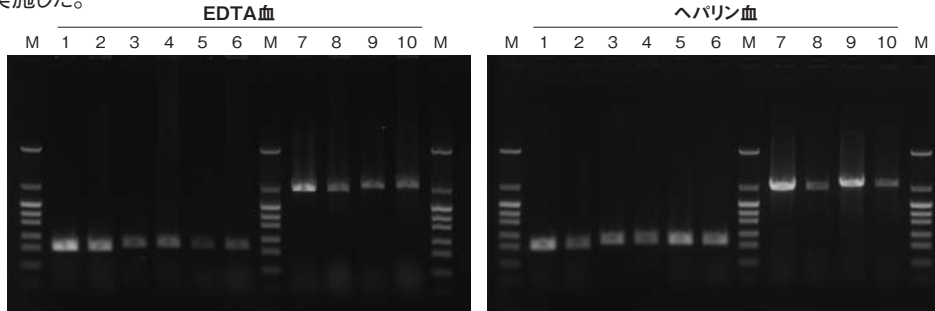
- マウス尾 ≤ 2 mm
- マウス耳 ≤ 5 mm²
- マウス臓器・脳 ≤ 30 mm³
- 植物の葉 ≤ 5 mm²
- 米粒1粒

MightyAmp®シリーズを用いた実施例の一部をご紹介します!

実施例1 マウス血液からのダイレクトPCR

Ver.2 (R071A/B)

マウス血液0.5 μl(奇数レーン)または1.0 μl(偶数レーン)を直接反応系(20 μl)に添加して、MightyAmp® Ver.2を用いたダイレクトPCRを実施した。



2% NuSieve™ 3:1 Agarose 反応液 5 μlをアプライ M: pHY Marker

<ターゲットと増幅サイズ>
 レーン 1, 2: *Tfr* 500 bp
 3, 4: *Hbb-b1* 542 bp
 5, 6: *Apoe* 530 bp
 7, 8: *Tfr* 1,989 bp
 9,10: *Dclre1a* 2,100 bp

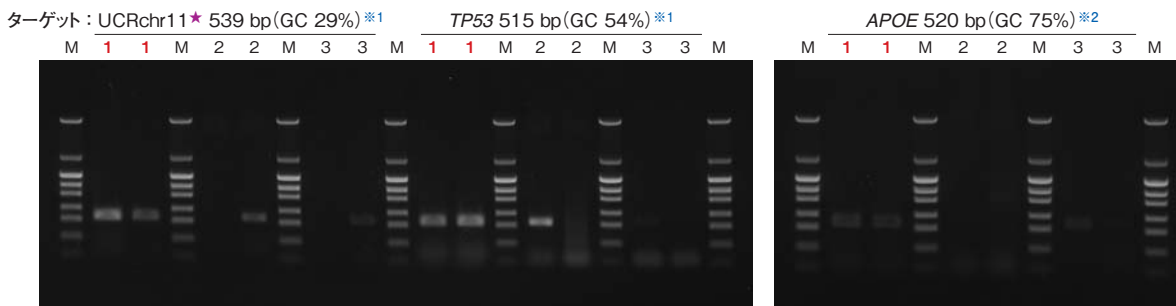
<PCR条件>
 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 1 min./kb } 30 cycles

★マウス血液を用いたダイレクトPCRで、いずれのターゲットでも良好な増幅が確認できました。
 注: クエン酸血を用いると反応性が著しく低下するため、クエン酸血の使用はお勧めしません。

実施例2 ヒト毛根からのダイレクトPCR

Ver.2 (R071A/B)

ヒト毛根(根元から2 mm)を直接反応系(50 μl)に添加して、各酵素の推奨条件でダイレクトPCRを実施した。



★11番染色体 Uncoding Region

レーン 1: **MightyAmp® Ver.2**
 2: A社動物組織用PCR酵素
 3: B社阻害物質耐性PCR酵素
 M: pHY Marker
 1% Agarose L03 反応液 5 μlをアプライ

<MightyAmp® Ver.2のPCR条件>
 ※1 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 30 sec. } 30 cycles

※2 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 68°C 30 sec. } 30 cycles

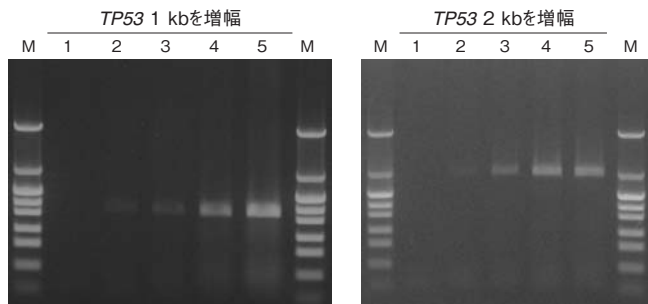
★MightyAmp® Ver.2では、GC含量にかかわらず、いずれも良好な増幅が見られました。

(弊社比較データ)

実施例3 細胞培養液からのダイレクトPCR

Ver.2 (R071A/B)

K562細胞懸濁液2 μl(<細胞数>参照)を直接反応系(50 μl)に添加して、MightyAmp® Ver.2を用いたダイレクトPCRを実施した。



1% Agarose L03 反応液5 μlをアプライ M: pHY Marker

<細胞数>
 レーン1: 0 cells 4: 10,000 cells
 2: 2,000 cells 5: 20,000 cells
 3: 5,000 cells

<PCR条件>
 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 1 min./kb } 30 cycles

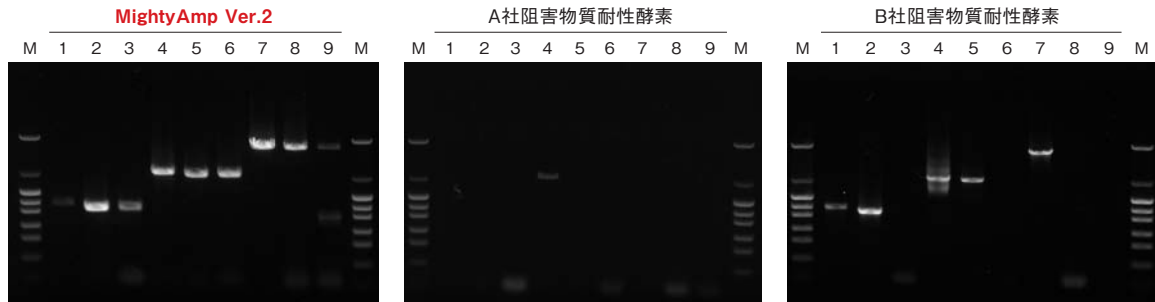
★いずれの細胞数においても、ダイレクトPCRによるターゲットの増幅が確認できました。

※MightyAmp® Ver.2を用いたダイレクトPCR: 上記のほか、肝臓、心臓、腎臓などのマウス組織、マウス尾、植物葉、米粒、唾液、口腔細胞などからの増幅例を、ウェブカタログや製品説明書でご紹介しています。

実施例4 ヒト爪からの簡易調製抽出液を用いたPCR増幅

Ver.2 (R071A/B)

ヒト爪5 mgからSimplePrep™ reagent for DNA(製品コード 9180)を用いてDNAを簡易調製した。上清(抽出液)2.5 μlを鋳型として(25 μl反応系)、各酵素の推奨条件でPCR増幅を行い、それぞれ3 μlを電気泳動に供した。



レーン1: UCRchr9 1.1 kb (GC 26%) 2: EGFR 1.0 kb (GC 50%) 3: TGFβ1 1.0 kb (GC 72%) 4: UCRchr11 2.2 kb (GC 27%) 5: IGF2R 2.0 kb (GC 50%)	6: IGFβ1 2.0 kb (GC 69%) 7: FMR1 4.0 kb (GC 33%) 8: EGFR 3.8 kb (GC 44%) 9: TGFβ1 4.0 kb (GC 63%) M: pHY Marker	<MightyAmp® Ver.2のPCR条件> 98°C 2 min. ↓ 98°C 10 sec. 68°C 1 min./kb } 40 cycles
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------

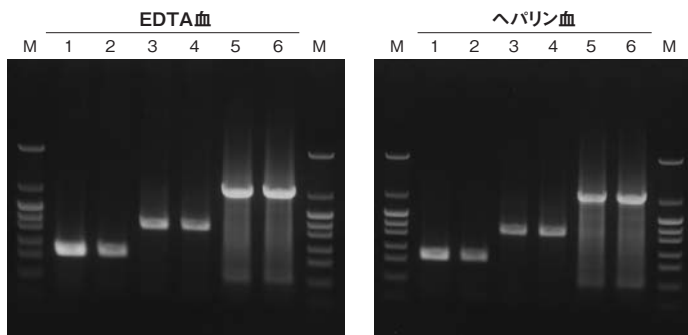
★MightyAmp® Ver.2では、DNA抽出が難しいヒト爪から簡便な操作で調製した粗抽出液が鋳型の場合でも、特異的増幅が難しいGCリッチやATリッチなターゲットも含めて効率よくPCR増幅できました。

(弊社比較データ)

実施例5 FTAジーンカードからのマウス血液ダイレクトPCR

for Card (R072A/B)

マウスEDTA血またはヘパリン血50 μlをFTAジーンカード(GEヘルスケア社)にアプライして乾燥した。カードの一部をディスク状(直径1.2 mm)にくり抜いてPCRチューブに入れ、反応液50 μlを添加してPCR増幅を行った。



レーン1,2: Ccnd2 0.5 kb 3,4: Gapdhs 1.0 kb 5,6: Dclre1a 2.1 kb M: pHY Marker

1% Agarose L03 反応液5 μlをアプライ

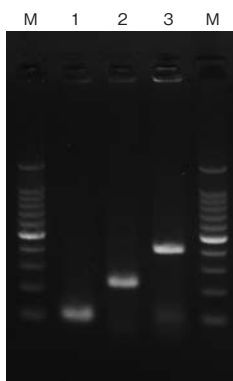
<PCR条件>
 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 60°C 15 sec.
 68°C 1 min./kb } 35 cycles

★MightyAmp® for Cardは、マウスEDTA血およびヘパリン血をアプライしたFTAカードから目的遺伝子を良好に増幅しました。

注: クエン酸血を用いると反応性が著しく低下するため、クエン酸血をアプライしたサンプルの使用はお勧めしません。

実施例6 ヒト扁桃腺パラフィン包埋切片からのPCR増幅

for FFPE (R073A/B)



スライドに固定されたヒト扁桃腺パラフィン包埋切片(約2 × 1 cm)から、製品添付のExtraction Buffer for MightyAmp® FFPEとProteinase Kを用いてDNAを抽出した(パラフィン抽出上清)。この上清2 μlを鋳型として(20 μl反応系)、MightyAmp®によるPCR増幅を行った。

<ターゲットと増幅サイズ> レーン1: KRAS 107 bp 2: KRAS 226 bp 3: HBB 408 bp M: 100 bp DNA Ladder 2% NuSieve™ 3: 1 Agarose 反応液5 μlをアプライ

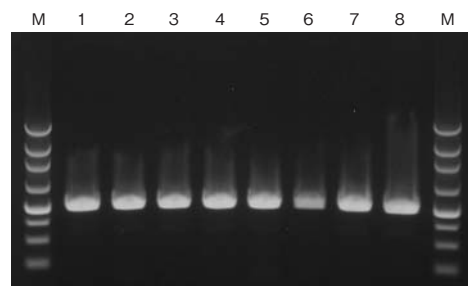
<PCR条件>
 98°C 2 min.
 ↓
 98°C 10 sec.
 55°C 15 sec.
 68°C 30 sec. } 40 cycles

★MightyAmp® for FFPEは、ヒト扁桃腺パラフィン切片抽出液から目的遺伝子を良好に増幅しました。

実施例7 マウス尾からのDNA抽出 & PCR増幅

Genotyping (R074A)

8匹のマウス尾の先端それぞれ約1 mmから、製品添付のExtraction BufferとProteinase Kを用いてDNAを抽出した。遠心後の上清2.5 μ lを鋳型として50 μ l反応系に添加し、MightyAmp[®]によるPCR増幅を行った。



<ターゲットと増幅サイズ>

レーン1~8 : *Ywhaz* 約1 kb
M : 250 bp DNA Ladder

反応液4 μ lに添付のLoading Dyeを加えてアプライ

<PCR条件>

98°C 2 min.

↓

98°C 10 sec.

60°C 15 sec.

68°C 1 min.

40 cycles

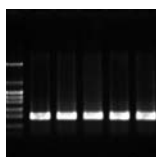
★MightyAmp[®] Genotyping Kitは、すべてのマウス尾の試料から目的遺伝子を良好に増幅できました。

実施例8 各種生体組織、加工食品からのPCR増幅

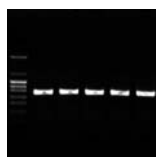
Genotyping (R074A)

さまざまなサンプル1~50 mg相当から、製品添付のExtraction BufferとProteinase Kを用いてDNAを抽出した。遠心後の上清2.5 μ lを鋳型として50 μ l反応系に添加し、MightyAmp[®]によるPCR増幅を行った。

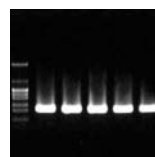
動物組織	植物組織	加工食品ほか
ヒト 爪、毛髪、血液	トマト 葉片、果実	ブタ 乾燥肉、ハム、ソーセージ
マウス 尾、耳、臓器、糞便	シロイヌナズナ 葉片	ビーフジャーキー [*] 、牛乳
ゼブラフィッシュ 尾 [*]	トウモロコシ 葉片、荒挽き粉 [*]	ヒツジ ひき肉
エビ 身	綿実外皮	土壌 バクテリア



・ゼブラフィッシュ 尾
サンプル量：
5 mm², 約2 mg
ターゲット：
ba1, 466 bp



・トウモロコシ 荒挽き粉
サンプル量：
50 mm², 約20 mg
ターゲット：
CesA1, 827 bp



・ビーフジャーキー
サンプル量：
20 mm², 約10 mg
ターゲット：
cox1 (ミトコンドリア),
528 bp

★MightyAmp[®] Genotyping Kitは、例示したものをはじめ、上記すべてのサンプルから目的遺伝子を良好に増幅できました。

〈製品リスト〉

製品名	容量	製品コード	価格 (税別)
MightyAmp [®] DNA Polymerase Ver.2	250 U	R071A	¥30,000
	1,000 U (A×4)	R071B	¥96,000
MightyAmp [®] for Card	200回	R072A	¥38,000
	800回 (A×4)	R072B	¥130,000
MightyAmp [®] for FFPE	40回	R073A	¥20,000
	160回 (A×4)	R073B	¥65,000
MightyAmp [®] Genotyping Kit	200回	R074A	¥50,000

▶弊社ウェブサイトでご紹介している各種実験例もぜひご覧ください。

Licensed under U.S. Patent No. 5,338,671 and 5,587,287 and corresponding patents in other countries.

その他のライセンス (最新のライセンス情報) に関しては弊社ウェブサイトにてご確認ください。

本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。

・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

・本パンフレット記載の価格は2011年9月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

タカラバイオ株式会社

東日本販売課 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

西日本販売課 TEL 077-543-7297 FAX 077-543-7293

TaKaRa テクニカルサポートライン

製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。

TEL 077-543-6116 FAX 077-543-1977

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

取扱店