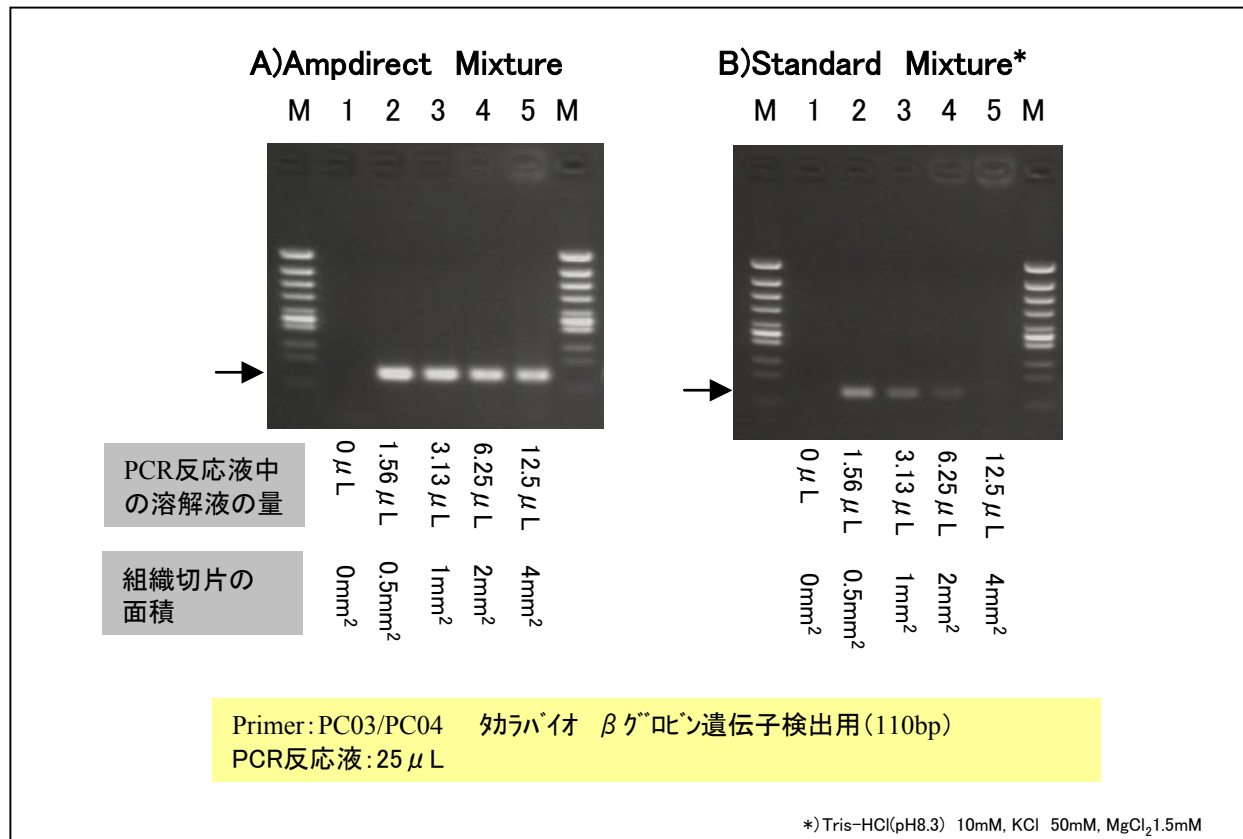
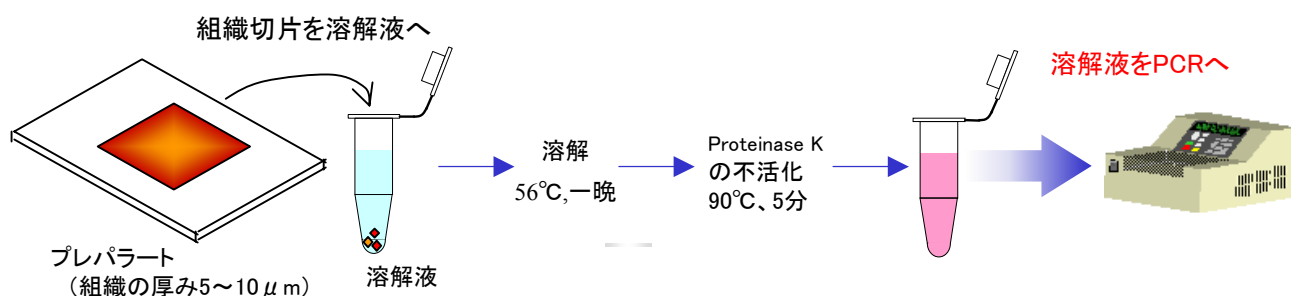


染色組織切片からのPCR 実施例

PCR阻害物質の中和作用を持つAmpdirect®を使用して、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色組織切片(ヒト肝臓)からのPCRを行いました。阻害物質によるPCR失敗の可能性を低減できます。

溶解液		Ampdirect®反応液(25 μl反応系)		PCR反応	
Proteinase K	1mg/ml	5 × Ampdirect-D	5 μl	Preheating	94°C 3min
Tween20	1%	dNTPs	各200 μM	50サイクル	94°C 30sec
Tris-HCl(pH8.0)	10mM	Primer	各0.5 μM		55°C 1min
EDTA	1mM	Platinum Taq DNA polymerase	0.625U		72°C 1min
⇒溶解反応は0.32mm ² /μLで56°C一晩行いました。		Distilled Water	up to 25 μl	Final Extension	72°C 7min

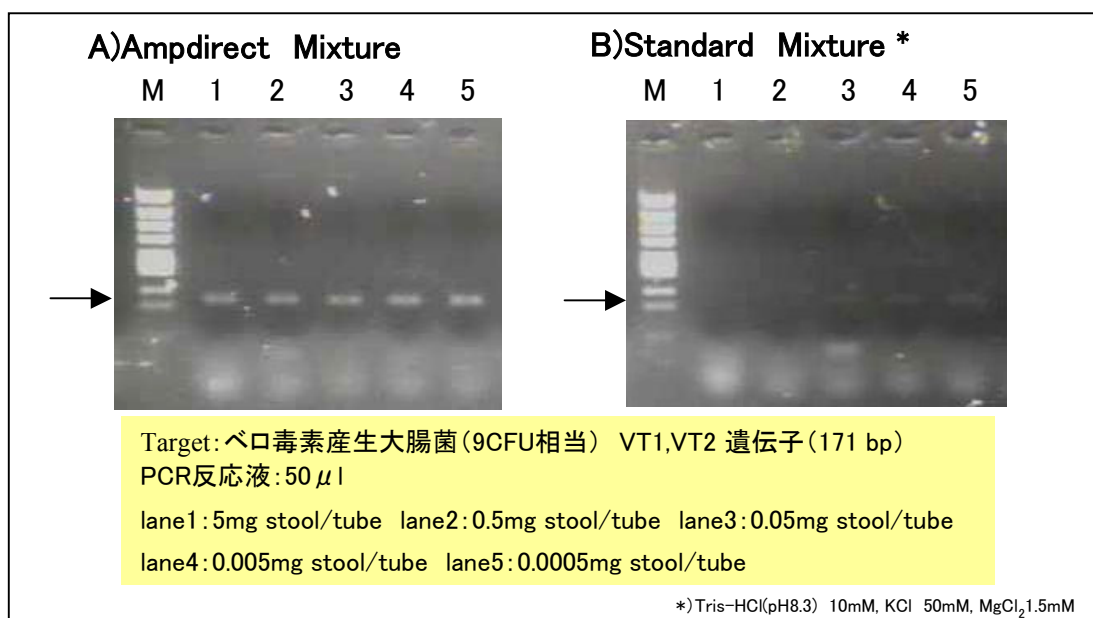
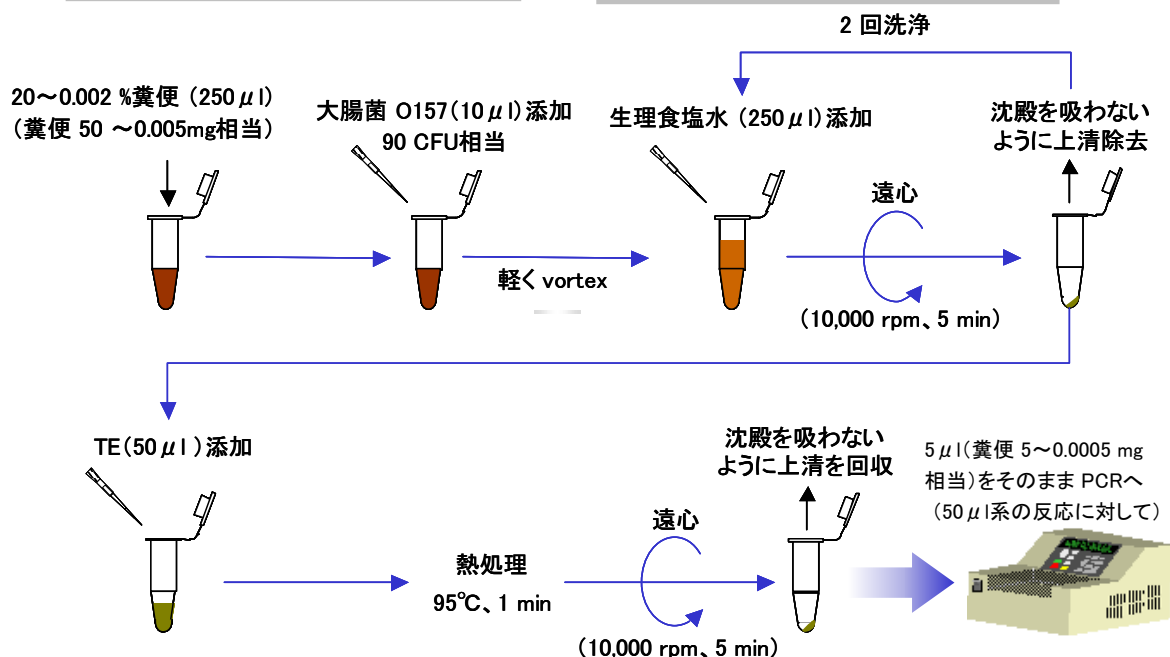


糞便中の大腸菌検出 PCR 実施例

Ampdirect®を使用して糞便中の大腸菌を検出する目的でPCRを実施しました。

Ampdirect®反応液 (50 μ l 反応系)	
5 \times Ampdirect-D	10 μ l
5 \times AmpAddition-3	10 μ l
dNTPs	各200 μ M
Primer	各0.5 μ M
<i>rTaq</i> DNA polymerase	1.25U
Distilled Water	up to 50 μ l

PCR反応	
Preheating	94°C 4.5min
40サイクル	94°C 30sec
	55°C 1min
	72°C 1min
Final Extension	72°C 7min

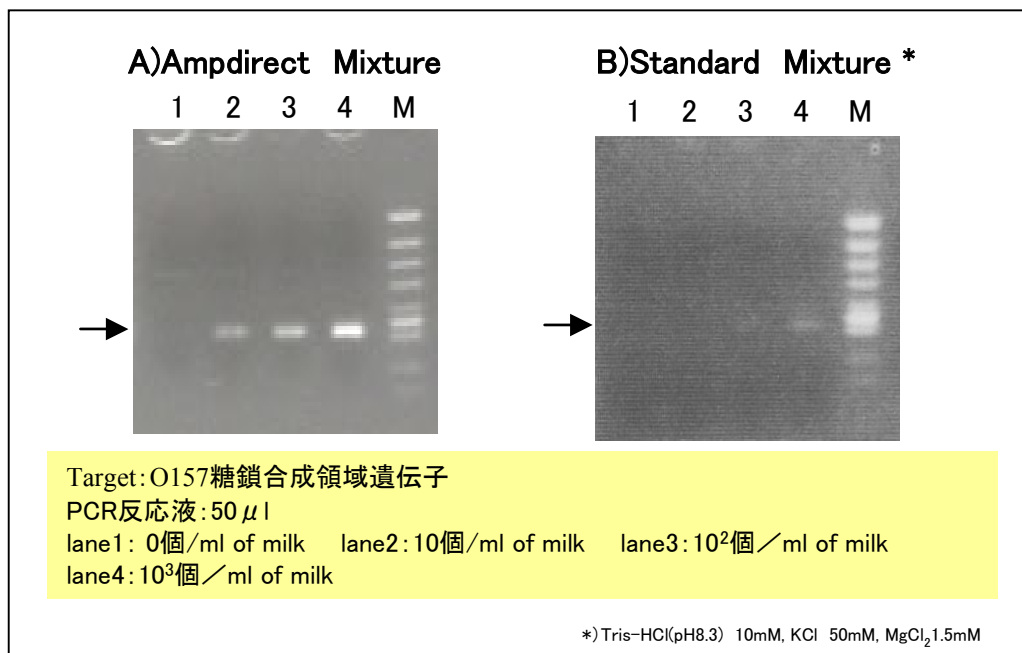
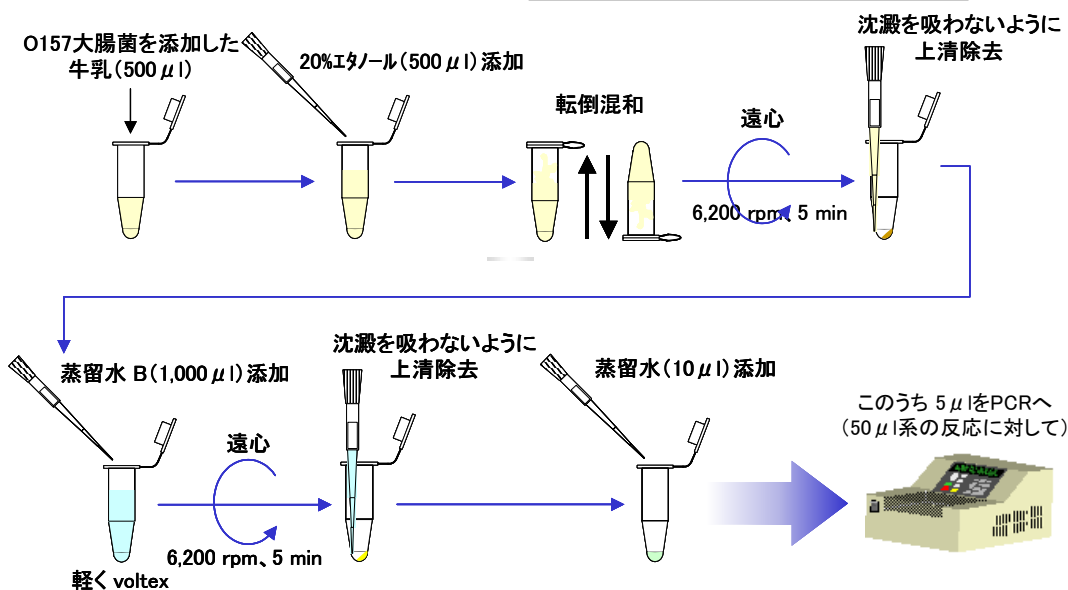


牛乳中の大腸菌検出 PCR 実施例

Ampdirect®を使用して牛乳中のO157大腸菌を検出する目的でPCRを実施しました。

Ampdirect®反応液 (50 μl 反応系)	
5 × Ampdirect-D	10 μl
5 × AmpAddition-3	10 μl
dNTPs	各200 μM
Primer	各0.5 μM
<i>rTaq</i> DNA polymerase	1.25U
Distilled Water	up to 50 μl

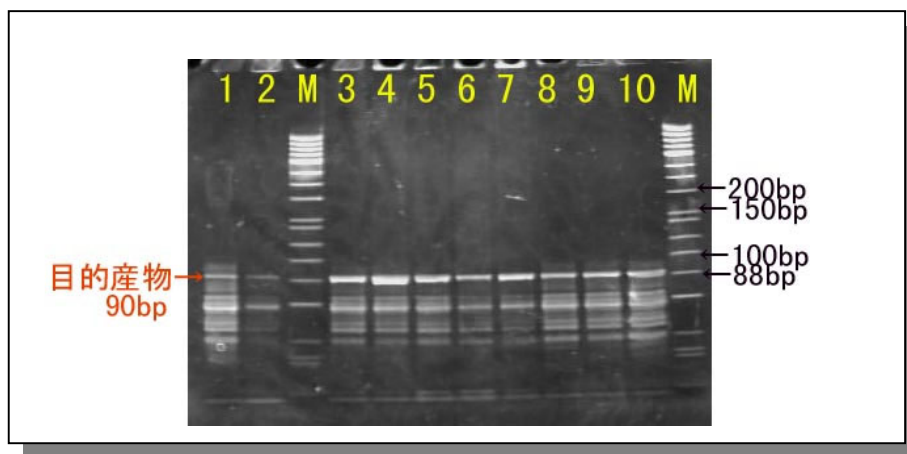
PCR反応	
Preheating	94°C 4.5min
40サイクル	94°C 30sec
	55°C 1min
	72°C 1min
Final Extension	72°C 7min



臓器からのPCR 実施例

Ampdirectを使用した牛の凍結保存臓器からのDNA直接増幅例をご紹介します！

Ampdirectを使用して凍結臓器からDNA精製作業なしに直接PCRを行いました。



ウシ臓器からAmpdirectにより直接増幅したDNAのアガロース電気泳動結果
(データ提供; (独) 農業生物資源研究所 動物細胞機能研究チーム 宮下先生)

【サンプル】

牛血液からの精製DNA 1 μ L (5ng) (lane1)

牛凍結血液を融解したもの1 μ L (lane2)

牛の凍結保存されていた臓器 (lane3:心臓, lane4:肺, lane5:肝臓, lane6:脾臓, lane7:腎臓, lane8:骨格筋,
lane9:皮膚, lane10:乳腺)

【臓器サンプルの調製方法】

牛各種臓器は凍結している状態でメスの刃を用いてパウダー状に約20mgを削り取って滅菌蒸留水
100 μ Lに加えてボルテックスで激しく懸濁したもの1 μ Lを、Ampdirect反応液に穏やかに加えた。

