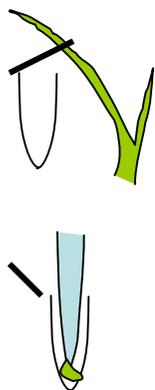
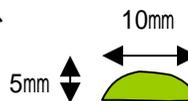


AmpDirectPCRキットによる組換えイネ導入遺伝子のPCR確認



1.5mlチューブのフタで葉をはさんで、幅5mmくらいの葉片を切り取る(*1)



レイニンファインポイントチップ(*2) 1mlの先を押しつぶして平らにし、それをチューブ底に擦り当てるようにして葉片をすりつぶす(チップはチューブに立てておく)

一般的なDNA実験に使うTE(10mM Tris, 1mM EDTA, pH8.0)をチップの脇から100ul入れて、その中で再度葉を潰す作業を行う

チップで葉の残骸をすくいとり、まとめて捨てる

上清をPCRのテンプレートに使う

AmpDirectPCRをセット(*3)

2xAmpDirectバッファー	5 μl	35cycle	94	10min
プライマー1 (3 μM)	0.25 μl		94	30sec
プライマー2 (3 μM)	0.25 μl			30sec
水	3.8 μl			30sec
サンプル	0.2 μl		72	2min
NovaTaq	0.05 μl			

(*1) 当然ながら若い葉を使うことが好ましいです。成熟老化した葉でも出来ない事はありませんが、硬くて潰しにくい等、PCRがうまくいかないリスクが高まります。

(*2) 「レイニンファインポイントチップ」は先端のチップ壁が非常に薄いので、何かに押し付けると簡単に潰れます。潰した先端はちょうど1.5mlチューブの底にフィットするので、葉片をすりつぶすのに都合が良く愛用しています。通常の1mlチップでも出来ないわけではありませんが、葉片をすりつぶす作業がやりにくく、テンプレート濃度が薄まってバンドが検出しにくくなる可能性があります。私がトレフの1mlチップでやった限りではいちおう検出できましたが。

(*3) プライマーはGC=4、AT=2 の計算で、20mer前後の長さで60 を目安に設定しています。