

# PCR Protocol for Genotyping ABCA1 Targeted Mice

## 前処理

### マウステイル溶解液

溶解液	Final 濃度	(作成)
<u>SNET</u>		<u>100ml 作成し作りおき</u>
Tris·HCl pH8.0	20mM	1M Tris·HCl pH8.0 を 2ml
EDTA	5mM	0.18g
NaCl	400mM	2.33g
SDS	0.3%	0.3g
<u>ProK 溶解液</u>		
Proteinase K	200ug/ml	100mg を 5ml に溶解

いずれも使用時まで-20 で保存。

SNET1ml に対し ProK 溶解液 10uL を加え 100uL ずつ分注する。

溶解液 100ul にマウステイル約 1mm を入れ、55 、3 時間(O/N が望ましい)で溶解。

溶解処理液を蒸留水で 10 倍希釈して、その 0.5ul を PCR に使用。

## PCR

PCR 条件	バンドのサイズ
94 4.5min	wild : 750bp
94 0.5min	mutant : 540bp
55 1min	hetero : 750bp & 540bp
72 1min	
72 7 min	
4 5 min	

40cycles

### PCR buffer

2 × Ampdirect Plus	10 uL
Ex-Taq Hot Start Version	0.1 uL
10uM Primer oIMR 1487-mut	1 uL
10uM Primer oIMR 1488-mut	1 uL
10uM Primer oIMR 1489-wt	1 uL
10uM Primer oIMR 1490-wt	1 uL
Sample	0.5 uL
dH2O	5.4 uL
Total	20 uL

本プロトコルは、大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学 循環器脂質研究室の奥 裕之様からご提供いただきました。