

トランスジェニックマウスのジェノタイピング

サンプルの種類

マウスの耳、尾など

サンプル量

- ・ 成体マウスの場合、個体識別のためのイヤープンチで得られる直径 2 mm 程度の耳組織1つで十分である。
- ・ 尾を用いる場合もできるだけサンプル量を少なくした方がうまくいく。3 mm 程度の長さでも問題ないが、溶解に時間がかかるうえ下記の例より希釈度を上げる必要がある。

サンプルの溶解処理

1.5 ml チューブに、サンプルと 100 μ l のサンプル溶解液(下表参照)を入れる。

バイオシェーカー (TAITEC BR-41) 等を用いて、55 $^{\circ}$ C で加温しながら 90 rpm 程度で攪拌すると、耳の場合、2 時間程度で溶解する。

- ・ 途中でボルテックスにかけると溶解が早まり、1 時間程度に短縮できる。
- ・ 新生仔の尾(1 mm 程度)の場合、約 1 時間で溶解する。

サンプル溶解液の組成

溶解液		最終濃度
SNET	Tris·HCl pH8.0	20 mM
	EDTA	5 mM
	NaCl	400 mM
	SDS	0.3%
Proteinase K		200 μ g/ml

PCR テンプレートの調製

- ・ 溶解したサンプルを超純水で 10 倍に希釈して PCR に使用する。
- ・ 溶け残りがある時も、溶解した部分を用いれば問題ない。
- ・ うまく PCR が掛からない時はサンプル量が多すぎるので、溶解液を超純水でさらに数倍希釈するか、PCR 反応液に添加する量を減らす。

PCR 反応系

2 × Ampdirect Plus	10 μ l
Hot start DNA polymerase	0.1 μ l
50 μ M プライマー (Forward)	0.2 μ l
50 μ M プライマー (Reverse)	0.2 μ l
サンプル(10 倍希釈したもの)	0.5 μ l
超純水	9 μ l
	20 μ l

PCR 条件(サーマルサイクラー:ASTEC PC320)

95 10min

94 30sec

60 1min 40 cycles

72 1min

72 7min

本プロトコルは、島根大学 生物資源科学部 生物科学科の松崎 貴先生からご提供いただきました。