

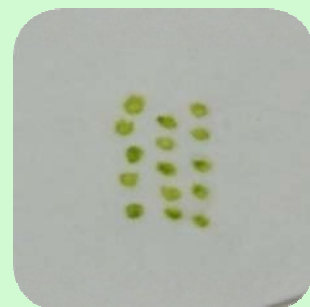
Ampdirect を用いた木本植物のダイレクトPCR法

① PCR反応液を作成、分注する

dH ₂ O	3.95 μ l
2 x Ampdirect Plus	5 μ l
Primer F (10pmol/ μ l)	0.5 μ l
Primer R (10pmol/ μ l)	0.5 μ l
Taq	0.05 μ l
Total	10 μ l

② 健全な葉を向軸面を下にして濾紙に置き、爪楊枝で15回突く

* 爪楊枝が葉を貫通し、濾紙に染みが付く程度の強さで突く(右図)



③ PCR反応液の入ったチューブに葉を突いた爪楊枝を5秒間浸す

* 爪楊枝の先端でチューブの底を突きながら浸す



④ PCR開始

特徴

- ・PCRの成功率; 500-1200bpのDNAマーカで平均96%
- ・作業時間; 96サンプルのPCRを開始するのに約1.5時間
- ・コスト; DNA抽出に用いる高額な機器(サンプル破碎装置、遠心機、ヒートブロック)が不要で、試薬およびプラスチック製品も大幅に節約できる
- ・汎用性; カンキツ、クリ、マンゴー、ナシ、カキなどでSSRマーカの増幅を確認
- ・DNAサンプルの作成も可能(参考文献に詳しく記述)

注意点

実験成功率確保のため、参考文献のご一読と予備実験による条件検討をお勧めします

参考文献 Ohta et al. J. Japan. Soc. Hort. Sci. (2013) 82(1), 14-21