

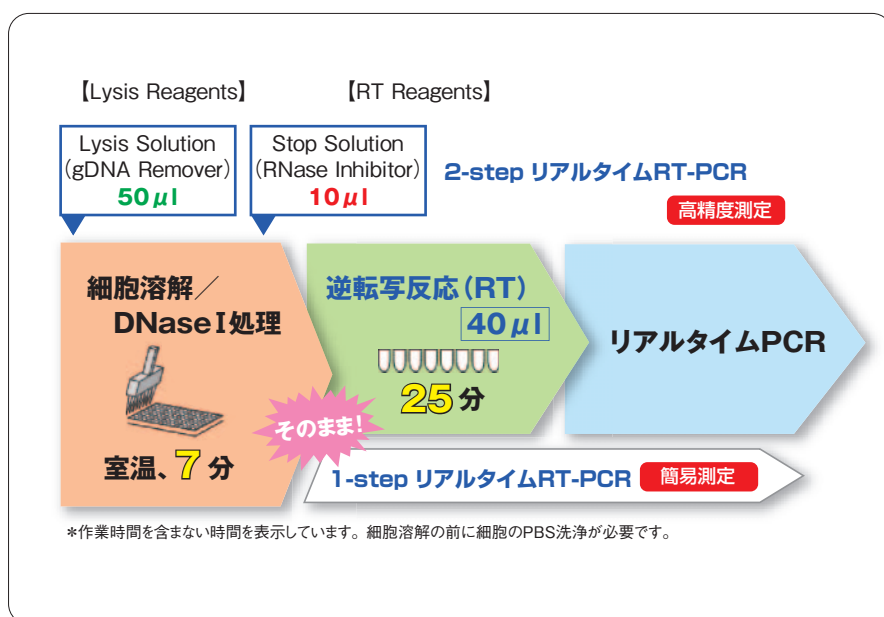
リアルタイムPCR用細胞溶解&cDNA合成キット (培養細胞用)

SuperPrep[®] Cell Lysis & RT Kit for qPCR

哺乳類培養細胞から簡便・短時間にリアルタイムPCR用の鑄型cDNAの調製が可能です。

SuperPrep[®] Cell Lysis & RT Kit for qPCR (Code:SCQ-101)は、リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析のための細胞溶解試薬 (Lysis Reagents) と逆転写反応試薬 (RT Reagents) からなるキットです。本製品をご使用いただくことで、96ウェルプレートなどで培養した細胞から、逆転写反応の鑄型として利用可能なRNAを含む細胞ライセートを簡便に調製することができます。さらに、本キットに含まれる逆転写反応試薬は、この細胞ライセートからのRT反応に最適化されています。本キットにより、簡便、迅速に培養細胞からリアルタイムPCR用の鑄型cDNAの合成が可能であり、ハイスループットアッセイに適しています。

SuperPrep[®] Cell Lysis Kit for qPCR (Code:SCQ-201)は、細胞溶解試薬 (Lysis Reagents) の別売品です。1-stepリアルタイムRT-PCRによる簡易アッセイのための細胞ライセートの調製にご使用いただけます。



【Lysis Reagents】



- ・ Lysis Solution
- ・ Stop Solution
- ・ gDNA Remover
- ・ RNase Inhibitor

※Lysis Reagents の別売品として、SuperPrep[®] Cell Lysis Kit for qPCR (Code No. SCQ-201) をご準備しております。

【RT Reagents】



- ・ 5×RT Master Mix
- ・ 5×RT Master Mix no-RT control *
- ・ Nuclease free Water

SuperPrep[®] Cell Lysis & RT Kit for qPCR (Code No. SCQ-101) 上の2種類の試薬セットを含みます。

* 逆転写酵素を含まないマスターミックスです。コントロールとして使用します。

特長1 RNA精製不要

- ・ 細胞をPBS (-) で洗浄後、Lysis Solution (gDNA Remover添加) を細胞に添加、懸濁し、室温で5分間インキュベートすることによって、細胞溶解とゲノムDNAの分解を同時に行います。反応停止はStop Solutionを添加して処理するのみで、熱処理は必要ありません。
- ・ 逆転写反応は、細胞ライセート (希釈不要) を加え、20分間インキュベートします。

特長2 ライセートから高品質なcDNAを合成

- ・ 最適化されたバッファー組成により、RNase等の細胞成分によるRNAの分解を効果的に抑えます (調製したRNAは氷上で2時間安定です)。また、DNase I 処理後にcDNA合成を行うことから、ゲノムDNAのコンタミの少ない高品質なcDNAを合成することができます。逆転写試薬は弊社の高効率逆転写酵素「ReverTra Ace[®]」をもとに最適化されたマスターミックスとなっており、簡便・高効率にcDNA合成を行うことができます。合成したcDNAは長期保存可能です。
- ・ 幅広い種類の細胞を用いて調製したライセートにも対応します。

特長3 ハイスループット解析のバラツキ低減

- ・ プロトコルから少量の分注工程や希釈工程を減らすことで、ハイスループット解析におけるバラツキを低減しました。また、細胞溶解時のピペティング操作を無くし、DNase I 処理を並行して行うことで操作性を向上させました。DNase I の反応の停止はStop Solutionを加えるのみで、RNAを不安定化する加熱工程などは不要です。

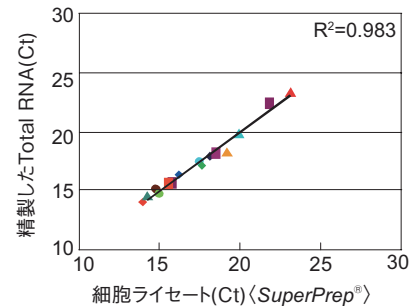
特長4 様々なリアルタイムPCR試薬に使用可能

・様々なリアルタイムPCR試薬(SYBR® Green I、TaqMan®アッセイ両方に対応可能)と組み合わせて使用可能です。
 また、弊社THUNDERBIRD® qPCR Mix (Code No. QPS-101、QPS-201)等と組み合わせて用いることによって、培養細胞から簡便かつ高精度の遺伝子発現解析が可能であることを確認しています。さらに、弊社RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix (Code No. QRT-101、QRT-201)等の1-stepリアルタイムRT-PCR試薬と組み合わせる簡易アッセイも可能です。



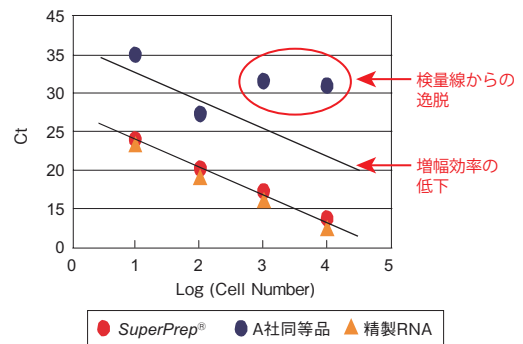
実施例1 精製RNAと細胞ライセートでのCtの相関の検証

SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCRを用いて、HEK293細胞2.5×10⁴ cellsからcDNAを合成しました(40μl 反応系)。また、HEK293細胞から抽出したTotal RNA 66.6ngからReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (Code No. FSQ-201)を用いてcDNA合成(40μl 反応系)を行いました。
 その後、それぞれのcDNAを鋳型にTHUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No. QPS-201)を用いて15種類のハウスキープング遺伝子についてリアルタイムPCRを行い、得られたCt値の相関性を検証しました。その結果、今回解析した15種類の遺伝子において、精製RNAと細胞ライセートを用いた解析に良好な相関が認められました。



実施例2 RNase活性が強い細胞における解析効率の検証

単球由来の細胞株U937は比較的RNaseの活性が高く、細胞溶解液を用いるアッセイは困難であるとされてきました。
 本実験では、U937細胞1×10⁴、1×10³、1×10²、1×10 cellsから調製した細胞ライセート8μlを用いてcDNA合成(40μl 反応系)を行った後、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No. QPS-201)を用いて、β-actin遺伝子についてリアルタイムPCRを行いました。
 同様に、A社同等品を用いて同様のアッセイを行いました(逆転写とリアルタイムPCR試薬もA社キット付属品を使用)。
 また、同じサンプルから精製したTotal RNAの相当量を用いて解析を行いました(ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix [Code No. FSQ-201]、THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix [Code No. QPS-201]使用)。
 その結果、弊社品での解析においてのみ、精製RNAを用いた場合同様に高い直線性を示しました。



品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR <Lysis Reagents> <RT Reagents> ・Lysis Solution ・5 x RT Master Mix ・Stop Solution ・5 x RT Master Mix no-RT control ・gDNA Remover ・Nuclease free Water ・RNase Inhibitor	100回用*1	-20℃	SCQ-101	¥76,000
	100回用×5	-20℃	SCQ-101X5	¥325,000
SuperPrep®/THUNDERBIRD® Probe qPCR set*3 ・SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR (SCQ-101)と THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (QPS-101)*2とのセット	1セット	-20℃	SCQ101/ QPS101	¥99,500
SuperPrep®/THUNDERBIRD® SYBR® qPCR set*4 ・SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR (SCQ-101)と THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (QPS-201)*2とのセット	1セット	-20℃	SCQ101/ QPS201	¥99,500
SuperPrep® Cell Lysis Kit for qPCR*5 ・Lysis Solution ・gDNA Remover ・Stop Solution ・RNase Inhibitor	100 回用	-20℃	SCQ-201	¥39,000

*1 40μlで逆転写反応をした場合に100回用としてご使用いただけます。
 *2 50μl反応で 200回用、20μl反応で 500回用としてご使用いただけます。
 *3 SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR (100回用) [¥76,000 → ¥72,270]とTHUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (Code No. QPS-101: 200回用) [¥29,000 → ¥27,230]とのセット販売品です。
 *4 SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR (100回用) [¥76,000 → ¥72,450]とTHUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (Code No. QPS-201: 200回用) [¥29,000 → ¥27,230]とのセット販売品です。
 *5 SuperPrep® Cell Lysis & RT Kit for qPCR に含まれる Lysis Reagents の別売り品です。

*SYBR は、Life Technologies Corporationの登録商標です。TaqMan は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。