TOYOBO

TOYOBOリアルタイムPCR製品ガイド

1-step 試薬

Realtime PCR Master Mix シリーズ

- cDNAを使って実験したい
- 多遺伝子を一度に解析したい
- cDNAを残しておきたい

RNA-direct™ Realtime PCR Master Mixシリーズ

- ハイスループットに解析したい
- 特異性をアップさせたい
- 感度をアップさせたい

高効率!

様々な機器に対応!!

コストパフォーマンス良好!!!

cDNA ← リアルタイム PCR用cDNA合成キット **ReverTra Ace® qPCR RT Kit** ← Total RNA mRNA

リアルタイムPCR用cDNA合成キット

ReverTra Ace® qPCR RT Kit

高効率逆転写酵素ReverTra Ace®使用

好評発売中

抜群のcDNA合成効率!!!

組成の改良により、今までにない効率を達成しました。

- Mixプライマー使用
- バッファー条件を更に至適化

短時間・簡便なプロトコールを採用!!

反応時間はわずか15分!! RNase H処理は不要です。

- パーツを簡素化
- 反応条件を至適化

リアルタイムPCR試薬との適合性がアップ!

PCR反応に影響しにくいように設計されています。

PCR反応液の20%(V/V)まで添加可能

実施例 1

cDNA合成量の比較

HeLa細胞由来のTotal RNA 100ngを鋳型として逆転写反応を行い、β-ActinとPolymerase εのcDNA量をリアルタイムPCRにより定量しました。

※図下の数値は、各社推奨の逆転写反応条件を示します。

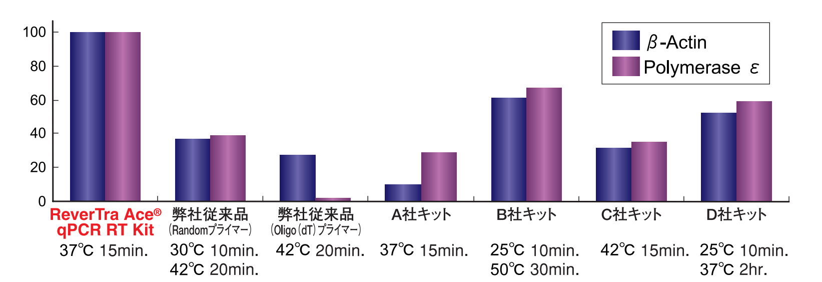


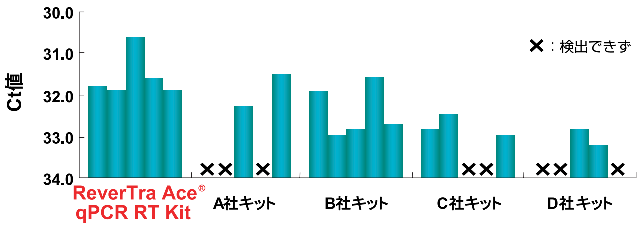
図1 cDNA合成量比較(ReverTra Ace® qPCR RT Kitでの値を100としています)

実施例 2 レア発現遺伝子の検出比較例

HeLa細胞において低発現であることが知られているTNF-α遺伝子の検出効率について各キットの比較を行いました。

各キットを用い、HeLa細胞由来のTotal RNA 100ngを逆転写し、それをRealtime PCR溶液(SYBR® Green Realtime PCR Master Mixを使用)に2%となるように添加してn=5で解析を行いました。

その結果、TNF-αの発現量が低いためすべての反応でCt値は30を超えましたが、本キットを用いた場合がもっともCt値が低く良好でした。また、検出率も100%でした。一方、他社キットの場合は、PCR成功率が低く、Ct値も高い傾向にありました。



	ReverTra Ace® qPCR RT Kit	A社キット	B社キット	C社キット	D社キット
Ct値平均	31.56	31.90	32.40	32.76	33.03
PCR成功率	100%	40%	100%	60%	40%

図2 TNF-α遺伝子の検出における検出効率の比較

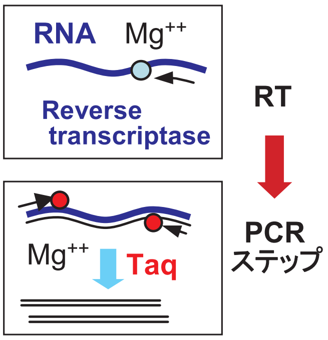
スタンダードタイプ

Realtime PCR Master Mix シリーズ

好評発売中

- **Realtime PCR Master Mix**
- **SYBR® Green Realtime PCR Master Mix**
- **SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-**

Taq DNA polymeraseをベースとした汎用性の高いリアルタイムPCR Master Mixです。SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-は、組成を最適化することで非特異反応を軽減しています。リアルタイムPCR用cDNA合成キット『ReverTra Ace® qPCR RT Kit』とセットで用いることで、より信頼性の高いデータを得ることが可能です(他の各種逆転写試薬もご使用いただけます)。



抗体を用いるホットスタート法を採用しています。

キャピラリーを用いる装置や、パッシブリファレンスの必要な装置など様々な装置に対応します。

実施例 1 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-を用いた比較例

サンプル	培養細胞由来 Total RNAから調製したcDNA(10^n倍希釈系列)(ReverTra Ace® qPCR RT Kit使用)
使用キット	SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-
測定機器	BioFlux LineGene
ターゲット	β-actin
結果	A社キットに比べ、良好な結果が得られました。増幅曲線の間隔も一定であり、測定可能範囲も広い傾向を示しました。

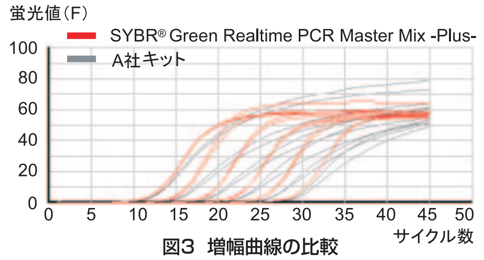


図3 増幅曲線の比較

実施例 2 Realtime PCR Master Mixを用いたTaqMan®アッセイ

サンプル	HeLa細胞 Total RNA(100ng)から調製したcDNA(5^n倍希釈系列)
使用キット	Realtime PCR Master Mix
測定機器	ABI PRISM® 7700
ターゲット	β-actin
結果	増幅曲線が等間隔で良好な増幅結果が得られました。

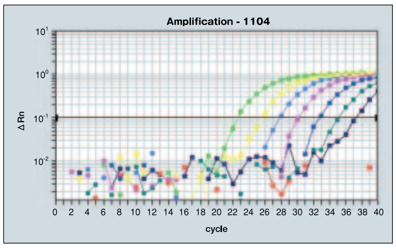


図4 5^n希釈系列の検量線

1-step 試薬　ハイスループット解析に最適

RNA-direct™ シリーズ

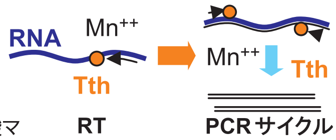
好評発売中

- *RNA-direct*™ Realtime PCR Master Mix
- *RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix

逆転写活性を示すTth DNA polymeraseをベースとして開発された、1酵素・1-step用のリアルタイムPCR Master Mixです。逆転写反応とPCRを連続的に1チューブで行うため、ハイスループット解析に適しています。また、高温で逆転写反応ができるため、従来の2酵素・1-step系に比べ特異性をアップさせることができます。逆転写プライマーにはPCRのリバースプライマーを用います。

キット外観：
Master Mix（青）と、酢酸マンガン溶液（橙）がアルミ袋で遮光包装されています。

*酢酸マンガンは*RNA-direct*™シリーズのみへの添付となります。



Tth DNA polymerase はMn++イオン存在下において、逆転写活性を示します。耐熱性酵素なので、60℃付近の温度で逆転写反応を行うことができます。逆転写反応にはPCRのリバースプライマーを用います。

抗体を用いるホットスタート法を採用しています。

キャピラリーを用いる装置や、パッシブリファレンスの必要な装置など様々な装置に対応します。

実施例 1　TaqMan®アッセイによる他社品（2酵素・1-step系）との比較

サンプル	ヒト培養細胞由来Poly（A）+RNA（10n倍希釈系列）
使用キット	*RNA-direct*™ Realtime PCR Master Mix A社 2酵素・1-stepキット（RTase+Taq使用）
測定機器	BioFlux LineGene　ターゲット　β-actin
結　果	A社の2酵素1-stepキットに比べ、立ち上がり速度、および直線性において優れていることが分かりました。

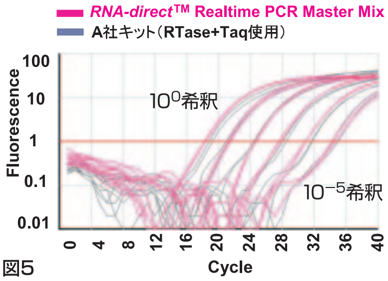


図5

実施例 2　SYBR® Greenアッセイによるプロテインキナーゼ遺伝子の定量

サンプル	ヒト組織由来Total RNA またはcDNA ・*RNA-direct*™ ⇒Total RNA 50ng, 200ng ・SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus- ⇒cDNA（Total RNA 10ng相当）<2-step系>
使用キット	*RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-
測定機器	Roche LightCycler™
定量方法	PKCδ（発現量をβ-actinの発現量で補正して算出）
結　果	2-step法と同じ定量結果を1-step法でより簡便に得ることができました。

2-step法と同様な結果が得られました

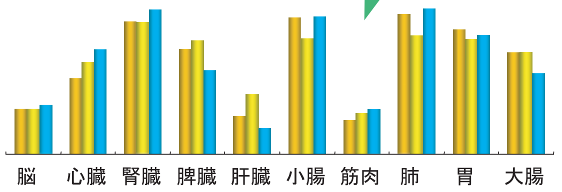


図6　1-step反応法と2-step反応法の比較（PKCδ）

黄色のバーは*RNA-direct*™（1-step法）による結果（Total RNA:50ng（左）,200ng（右））。青色のバーが2-step法での結果（Total RNA 10ng RNA 10ng相当の逆転写反応液を使用）。縦軸は相対発現量を示します。

パーソナルタイプの決定版　**核酸増幅リアルタイムモニタリング装置好評発売中!!**

Real Time Monitoring Fluorescent Quantitative Detection System

LineGene

無料訪問デモ実施中

■コストパフォーマンス良好

- 専用チューブやキャピラリー不要（汎用0.2mlチューブを使用可能）
- 反応ボリュームは10μl～
- 0.2mlチューブ×33本に対応

■多様な系に対応

- SYBR® Green I, TaqMan® probe（リポーター:FAM、クエンチャー:TAMRA）、Hybridization probes, Molecular Beaconに対応。
- 励起波長:470nm　● 検出波長:530nm、640nm、710nm

■ソフトウェア

- 日本語対応で操作性抜群
- 増幅曲線のリアルタイム表示
- ランニング中にグラフスケールを変更可能
- 反応中に1サイクル単位で削除・追加可能
- 定量解析、融解曲線解析可能
- 測定の生データを参照可能

■高感度オプティカルユニット

- 励起用光源に、発熱性が低く安定、長寿命のBlue LED採用
検出器に高感度、低ノイズのPMTを採用

RT&リアルタイムPCR試薬

品　　名	包　　装*	Code No.	保存	価　　格
リアルタイム PCR用cDNA合成キット **ReverTra Ace® qPCR RT Kit** 5×RT Buffer (dNTP含有) Enzyme Mix (ReverTra Ace®+ RNase inhibitor) Primer Mix (Oligo dT + Random Primer) Nuclease-free water	200回用	FSQ-101	-20℃	¥38,000
Realtime PCR Master Mix (2×濃度) [各種プローブアッセイ用]	200回用(1ml×5本)	QPK-101	-20℃	¥37,000
	1000回用([1ml×5本]×5)	QPK-101X5		¥170,000
	40回用(1ml×1本)	QPK-101T		¥10,000
SYBR® Green Realtime PCR Master Mix (2×濃度) [SYBR® Green アッセイ用]	200回用(1ml×5本)	QPK-201	-20℃	¥37,000
	1000回用([1ml×5本]×5)	QPK-201X5		¥170,000
	40回用(1ml×1本)	QPK-201T		¥10,000
SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-** (2×濃度) [SYBR® Green アッセイ用] <バージョンアップ品(Plus solution別添)>	200回用(1ml×5本)	QPK-212	-20℃	¥37,000
	1000回用([1ml×5本]×5)	QPK-212X5		¥170,000
	40回用(1ml×1本)	QPK-212T		¥10,000

*ReverTra Ace® qPCR RT Kitは1反応を10µlで行った時の使用回数を、Realtime PCR Master Mixシリーズは1反応を50µlで行った時の使用回数を表示しています。
**仕様変更になり、Plus solutionが別添になりました。性能は変更前のものと同等です。Code No.が変更になっております。ご注意ください。

1-step用リアルタイムPCR試薬

品　　名	包　　装*	Code No.	保存	価　　格
***RNA-direct*™ Realtime PCR Master Mix** (2×濃度)<酢酸マンガン溶液別添> [各種プローブアッセイ用]	100回用(0.5ml×5本)	QRT-101	-20℃	¥33,000
	500回用([0.5ml×5本]×5)	QRT-101X5		¥150,000
	40回用(0.5ml×2本)	QRT-101T		¥17,000
***RNA-direct*™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix** (2×濃度)<酢酸マンガン溶液別添> [SYBR® Green アッセイ用]	100回用(0.5ml×5本)	QRT-201	-20℃	¥33,000
	500回用([0.5ml×5本]×5)	QRT-201X5		¥150,000
	40回用(0.5ml×2本)	QRT-201T		¥17,000

*1反応を50µlで行った時の使用回数を表示しています。

※PCR関連商品のラベルライセンスについての詳細は、弊社ウェブサイト(www.toyobo.co.jp/bio)をご覧ください。
※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。
※TaqMan®は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。
※ABI PRISM®は、Applied Biosystems Inc.の登録商標です。
※LightCycler™は、Idaho Technology Inc.の商標です。

測定機器

無料訪問デモ実施中 弊社webサイト(お問い合わせ・ご請求コーナー)からご依頼いただけます。

BioFlux

品　　名	包　　装	Code No.	価　　格
核酸増幅リアルタイムモニタリング装置 **LineGene**(本体+ソフトウェア)	一式	BFFQD-33A	¥1,890,000

※別途制御用のパソコンが必要です(現在お手持ちのパソコンもお使いいただけます)。本体のパソコンの接続にはRS232Cポートを使用します。
USBポートに本機を接続する際には、別途シリアルコンバーターが必要です。

製品及び原理等でご不明な点がございましたら
下記までお気軽にお問い合わせください。

TOYOBO 東洋紡績株式会社

ライフサイエンス事業部(大阪)
〒530-8230　大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
TEL.06-6348-3786　FAX.06-6348-3833
E-mail order_lifescience@toyobo.jp

ライフサイエンス事業部(東京)
〒103-8530　東京都中央区日本橋小網町17番9号
TEL.03-3660-4819　FAX.03-3660-4951
E-mail order_lifescience@toyobo.jp

Toyoboテクニカルライン
TEL.06-6348-3888
(9:00〜12:00　13:00〜17:00(土・日・祝を除く))
FAX.06-6348-3833
E-mail tech_osaka@toyobo.jp

Toyobo Web Site
[http://www.toyobo.co.jp/bio]

PCRは東洋紡

2008. 3. 3,000