TOYOBO

●KOD SYBR® qPCR Mixの使用条件 [ABI QuantStudio™ 5]

(1)反応液の調製

以下に、20 μL反応時の調製例を示します。

試薬	20μL反応	最終濃度
滅菌水	X μL	
KOD SYBR® qPCR Mix	10 μL	1x
Forward Primer	4 pmol	0.2 μM*1
Reverse Primer	4 pmol	0.2 μM*1
50X ROX reference dye	0.04 μL	0.1x
DNA溶液	Y μL	
合計液量	20 μL	

*1: 増幅効率が不十分な場合は、プライマー濃度を増やすことで、また非特異反応が発生する場合は、プライマー濃度を減らすことで、反応結果が改善することがあります。
プライマー濃度は、最終濃度0.05～1.0 μMを目安にご検討ください。

(2)PCRサイクル条件設定

ステップ		温度	時間	昇降速度
初期変性		98° C	2分	最大
PCR	変性	98° C	10秒	最大
(40 cycles)*3	伸長	68° C	30秒/500bp*2	最大
			(500bp以下は30秒)	
(Data Collectionは伸長ステップに設定します)				
融解曲線分析 (Melting / Dissociation Curve Analysis)*4				

*2:増幅曲線のがたつきや、ウェル間の変動が大きい場合には、長めの時間(45～60秒/500bp)を設定してください。

*3:クルードサンプルからの検出の場合、サイクル数（～50 cycles）を増やすことで、検出感度が改善されることがあります。

*4:GC含有率が80%を超えるようなターゲットでは、融解曲線が途中で切れてしまう場合があります。
この場合、融解温度の上限を99℃に設定することで解決する場合があります。

TOYOBO 東洋紡株式会社

バイオプロダクト営業部（大阪）
〒530-0001　大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス
TEL 06-6348-3786　FAX 06-6348-3833

バイオプロダクト営業部（東京）
〒104-8345　東京都中央区京橋一丁目17番10号
住友商事京橋ビル
TEL 03-6887-8819　FAX 03-6887-8951

PCRは東洋紡

テクニカルライン
TEL 06-6348-3888　FAX 06-6348-3833
開設時間 : 9:00～12:00 13:00～17:00
(土日祝日、休日を除く)
e-mail: tech_osaka@toyobo.jp
[URL] https://lifescience.toyobo.co.jp/