

## ●KOD SYBR® qPCR Mixの使用条件 [タカラバイオ Thermal Cycler Dice]

### (1)反応液の調製

以下に、50 μLおよび20 μL反応時の調製例を示します。

試薬	50μL反応	20μL反応	最終濃度
滅菌水	X μL	X μL	
KOD SYBR® qPCR Mix	25 μL	10 μL	1x
Forward Primer	10 pmol	4 pmol	0.2 μM*1
Reverse Primer	10 pmol	4 pmol	0.2 μM*1
DNA溶液	Y μL	Y μL	
合計液量	50μL	20μL	

\*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 (40 cycles)	変性 98° C 伸長 60° C*2	10秒 30秒	最大 最大
(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)*3			

\*2: 十分な増幅効率が得られない場合は温度を低めに、非特異的の反応が発生する場合は温度を高めに設定することで、反応が改善されることがあります。56~64°Cの範囲を目安にご検討ください。

\*3: 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°Cに設定することで解決する場合があります。