

# ●THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mixの使用条件 [ABI 7000]

## (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   |          |
| THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix | 25 μL   | 10 μL  | 1x       |
| Forward Primer              | 15 pmol | 6 pmol | 0.3 μM*1 |
| Reverse Primer              | 15 pmol | 6 pmol | 0.3 μM*1 |
| 50X ROX reference dye       | 1 μL    | 0.4 μL | 1x       |
| DNA溶液                       | Y μL    | Y μL   |          |
| 合計液量                        | 50 μL   | 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0.2~0.6 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   | 95° C | 60秒     | 最大   |    |
| PCR (40 cycles)                                | 変性    | 95° C   | 15秒  | 最大 |
|  | 伸長    | 60° C*2 | 60秒  | 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) |       |         |      |    |

\*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。