

●THUNDERBIRD® Probe qPCR Mixの使用条件 [ABI 7500]

(1)反応液の調製

以下に、TaqMan® Probeを用いた50 μ Lおよび20 μ L反応時の調製例を示します。

試薬	50 μ L反応	20 μ L反応	最終濃度
滅菌水	X μ L	X μ L	
THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix	25 μ L	10 μ L	1x
Forward Primer	15 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
Reverse Primer	15 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
TaqMan® Probe	10 pmol	4 pmol	0.2 μ M*1
50X ROX reference dye	0.1 μ L	0.04 μ L	0.1x
DNA溶液	Y μ L	Y μ L	
合計液量	50 μ L	20 μ L	

*1:プライマー・プローブの発売元から、添加濃度が指定されている場合は、発売元の指定条件に従ってください。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(低濃度の鋳型での反応で増幅曲線の立ち上がりが悪くなる場合)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 μ M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 変性	95° C	15秒	最大
(40 cycles) 伸長	60° C*2	60秒	最大
(Data Collectionは伸長ステップに設定します)			

*2:十分な増幅効率が得られない場合は温度を低めに、非特異的反応が発生する場合(鋳型濃度が低いサンプルで、増幅曲線の形状がゆがむ場合)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。

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

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.toyoobo.co.jp/

