

● THUNDERBIRD® Probe qPCR Mixの使用条件 [ABI 7900HT]

(1) 反応液の調製

以下に、TaqMan® Probeを用いた50 µLおよび25 µL反応時の調製例を示します。

試薬	50 µL反応	25 µL反応	最終濃度
滅菌水	X µL	X µL	
THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix	25 µL	12.5 µL	1x
Forward Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM* ¹
Reverse Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM* ¹
TaqMan® Probe	10 pmol	5 pmol	0.2 µM* ¹
50X ROX reference dye	1 µL	0.5 µL	1x
DNA溶液	Y µL	Y µL	
合計液量	50 µL	25 µL	

*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 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 変性	95° C	15秒	最大
(40 cycles) アニーリング	55~63° C* ²	5~15秒	最大
伸長	64° C	45秒	最大
(Data Collectionは伸長ステップに設定します)			

*2:アニーリング温度の設定は、プライマーのT_mと同じ温度からT_m-5° Cの範囲に設定してください。非特異反応が多い場合は温度を上げることで改善される場合があります。

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

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/>

