TOYOBO

●THUNDERBIRD® Probe qPCR Mixの使用条件 [ABI QuantStudio™](Fast mode)

(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	50μL反応	25μL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
50× ROX reference dye	0.1 μL	0.05 μL	0.1x
DNA溶液	Y μL	Y μL	
合計液量	50 μL	25μL	

*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		94°C	20秒	最大
PCR	変性	95°C	1~3秒	最大
(40 cycles)	ｱﾆｰﾘﾝｸﾞ	55～63°C*2	5秒	最大
	伸長	64°C	20~30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Tmと同じ温度からTm-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

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/