

## ●THUNDERBIRD® Probe qPCR Mixの使用条件 [Qiagen RotorGene]

### (1)反応液の調製

以下に、25  $\mu$ L反応時の調製例を示します。

試薬	25 $\mu$ L反応	最終濃度
滅菌水	X $\mu$ L	
THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix	12.5 $\mu$ L	1x
Forward Primer	7.5 pmol	0.3 $\mu$ M*1
Reverse Primer	7.5 pmol	0.3 $\mu$ M*1
TaqMan® Probe	5 pmol	0.2 $\mu$ M*1
DNA溶液	Y $\mu$ L	
合計液量	25 $\mu$ 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  $\mu$ 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 (35~40 cycles)	変性 95° C 伸長 60° C*2	5~15秒 10~30秒	最大 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。