

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

(1)反応液の調製

以下に、25 µLおよび20 µL反応時の調製例を示します。

試薬	25µL反応	20µL反応	最終濃度
滅菌水	X µL	X µL	
THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix	12.5 µL	10 µL	1x
Forward Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 µM* ¹
Reverse Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 µM* ¹
TaqMan® Probe	5 pmol	4 pmol	0.2 µM* ¹
50 × ROX reference dye	0.5µL	0.4 µL	1x
DNA溶液	Y µL	Y µL	
合計液量	25µL	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 変性	95° C	15秒	最大
(40 cycles) アニーリング	55~63° C* ²	15秒	最大
伸長	64° C	60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

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/>

