

●THUNDERBIRD® Next Probe qPCR Mixの使用条件 [ABI 7500 Fast : 高速サイクル]

(1)反応液の調製

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

試薬	50µL反応	20µL反応	最終濃度
滅菌水	X µL	X µL	
THUNDERBIRD® Next Probe qPCR Mix	25 µL	10 µL	1x
Forward Primer	15 pmol	6 pmol	0.3 µM*1
Reverse Primer	15 pmol	6 pmol	0.3 µM*1
TaqMan® Probe	10 pmol	4 pmol	0.2 µM*1
50X ROX reference dye (Uracil-N-Glycosylase)	0.1 µL (1 unit)	0.04 µL (0.4 unit)	0.1x
DNA溶液	Y µL	Y µL	
合計液量	50 µL	20 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
(UNG反応)	(20~25° C)	(10分)	(最大)
初期変性	95° C	30秒	最大
PCR (40 cycles)	変性 95° C 伸長 60° C*2	5秒 10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(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.toyobo.co.jp/>

