

●THUNDERBIRD® Next SYBR® qPCR Mixの使用条件 [Qiagen RotorGene : 高速サイクル]

(1)反応液の調製

以下に、25 µL反応時の調製例を示します。

試薬	25µL反応	最終濃度
滅菌水	X µL	
THUNDERBIRD® Next SYBR® qPCR Mix	12.5 µL	1x
Forward Primer	7.5 pmol	0.3 µM*1
Reverse Primer	7.5 pmol	0.3 µM*1
DNA溶液	Y µL	
合計液量	25 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
(UNG反応)	(20~25° C)	(10分)	(最大)
初期変性	95° C	30秒	最大
PCR 変性	95° C	5秒	最大
(40 cycles) 伸長	60° C*2	10秒	最大
(Data Collectionは伸長ステップに設定します)			
融解曲線分析 (Melting / Dissociation Curve Analysis)			

*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。