

●RNA-direct® SYBR™ Green Realtime PCR Master Mixの 使用条件 [ABI 7500]

(1)反応液の調製

以下に、25 μ L および20 μ L 反応時の調製例を示します。

試薬	25 μ L反応	20 μ L反応	最終濃度
滅菌水	X μ L	X μ L	
RNA-direct® SYBR™ Realtime PCR Master Mix	12.5 μ L	10 μ L	1x
50mM Mn(OAc) ₂	1.25 μ L	1 μ L	2.5 mM
Forward Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
Reverse Primer	7.5 pmol	6 pmol	0.3 μ M*1
TaqMan® Probe	5 pmol	4 pmol	0.2 μ M*1
Total RNA sample	<1.25 μ g (mRNAは250 ng)	<1 μ g (mRNAは200 ng)	
合計液量	25 μ L	20 μ L	

*1: プライマー濃度は、最終濃度0.2~0.6 μ Mを目安にご検討ください。

(2)RT-PCR条件設定 (ROX補正をはずし、Standard Mode で実施してください。)

ステップ	温度	時間	昇降速度
逆転写反应用変性	90° C	30秒	最大
逆転写反応	61° C	20分	最大
PCR初期変性	95° C	60秒	最大
PCR 変性	95° C	15秒	最大
(45 cycles) アニール [*]	55~65° C*2	15秒	最大
伸長	74° C	45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: アニール温度の設定は、プライマーのT_mと同じ温度からT_m-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.toyoobo.co.jp/

