

● RNA-direct® SYBR™ Green Realtime PCR Master Mixの 使用条件 [ABI ViiA7™]

(1) 反応液の調製

以下に、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	
RNA-direct® SYBR™ Green Realtime PCR Master Mix	25 µL	10µL	1x
50mM Mn(OAc) ₂	2.5µL	1µL	2.5 mM
Forward Primer	10 pmol	4 pmol	0.2 µM*1
Reverse Primer	10 pmol	4 pmol	0.2 µM*1
Total RNA sample	<2.5 µg (mRNAは500 ng)	<1µg (mRNAは200 ng)	
合計液量	50 µL	20µL	

*1: 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) 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	60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.toyo.co.jp/

