

## 高効率リアルタイムPCR用マスターミックス KOD SYBR® qPCR Mix

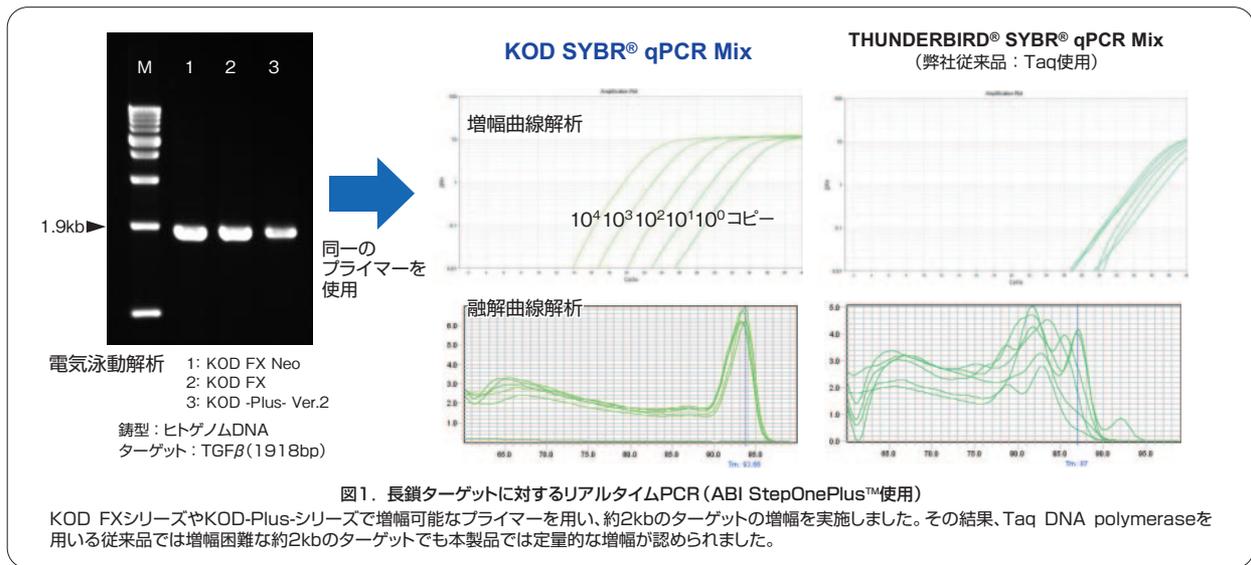
GCリッチ等の難配列の増幅に最適。今まで設計したプライマーを使用可能。

KOD SYBR® qPCR Mixは、KOD DNA polymerase (KOD)を使用したSYBR® Green I 検出系によるリアルタイムPCR用マスターミックスです。3'→5'エキソヌクレアーゼ活性(校正活性)を除去したKOD exo(-) DNA polymeraseと最適化されたバッファー条件を組み合わせることで、KODの『優れた合成能』や『クルード成分の阻害を受けにくい』という性質を最大限に発揮し、安定したリアルタイムPCR解析が可能になりました。



### 特長1 長鎖ターゲットの増幅が可能(～2kb)

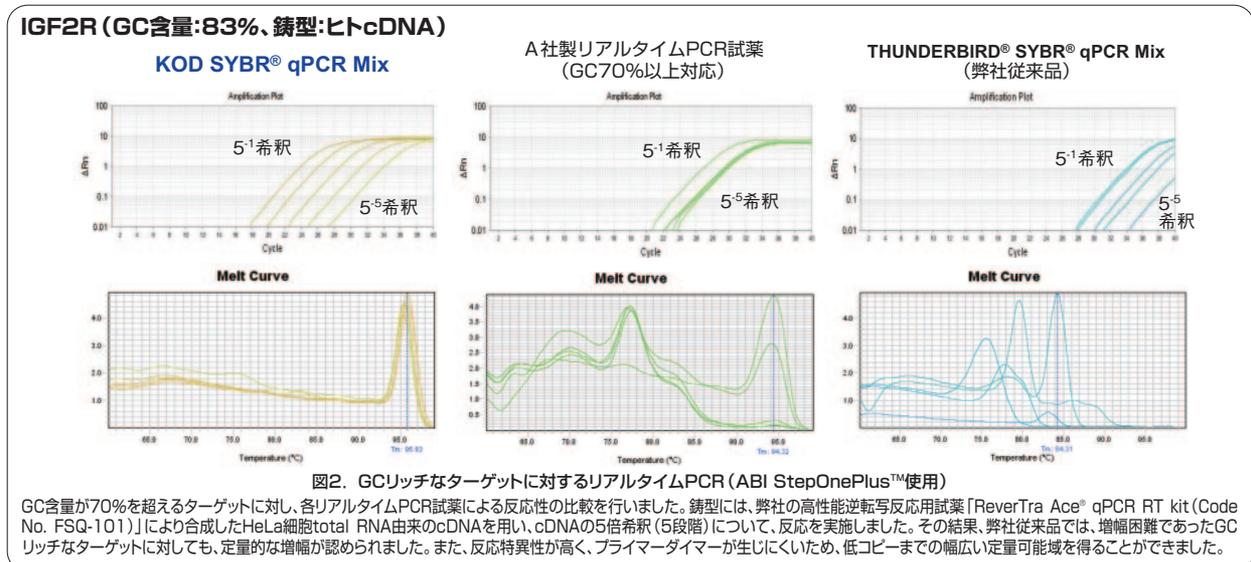
KOD DNA Polymeraseの特長を活かして長鎖ターゲット増幅での定量性に優れます。プライマーの選択幅が格段に広がり、2kbまでのターゲットであれば、多くの場合今まで設計したプライマーをそのまま用いることも可能です。



また、2kbまでの様々なターゲット長を選択できるため、幅広い融解曲線解析が可能です。プライマーダイマーの発生領域(短鎖領域)を外して増幅領域を選べるため、エンドポイントアッセイを用いる多型解析、マルチプレックスPCR解析などに有利です。

### 特長2 GCリッチターゲットに対応

KOD DNA polymeraseを使用することで、Taq DNA polymeraseを用いる従来品では困難であったGC含量が70%を超えるようなターゲットにおいても、定量的な増幅が認められます。



### 特長3 クールドサンプルを用いる解析が可能

クールド成分による阻害を受けにくい、血液やマウステール、植物ライセート等を用いるアッセイが可能です。長鎖増幅やTail配列を付加したプライマーを用いる増幅によるジェノタイピング解析等に应用することができます。

#### マウステールライセートを用いるジェノタイピング例

**アルカリ溶解法**

- ① マウステール (約3mm)
- ② マイクロチューブへ
- ③ 50mM NaOH 180µl添加  
Vortexにて良く攪拌
- ④ 95°C・10min.  
1M Tris-HCl (pH8.0) 20µl添加  
Vortexにて良く攪拌  
遠心 (12,000rpm, 10min.)
- ⑤ 20µl反応系に上清0.5~2µlを添加  
(マウステールは完全には溶解しません)

Wild type (WT) 100bp/予測Tm値:79°C  
WT用 primer  
共通 primer

CreER knock-in (KI) 341bp/予測Tm値:84°C  
Cre用 primer

WT/WT, WT/KI, KI/KI

Temperature (°C)

※本実験で使用したトランスジェニックマウスのマウステールは、東京大学 分子細胞生物学研究所 情報伝達研究分野 平林祐介先生よりご供与いただきました。

図3. 融解曲線解析を用いるワンチューブマウスジェノタイピング (ABI 7500使用)

マウステールアルカリ熱抽出液を用い、ワンチューブでジェノタイピング解析を実施しました。WT特異的増幅産物とknock-in特異的増幅産物の増幅長を変えることで、計算上、増幅産物のTm値に差異が生じるように設計しました。WT特異的プライマーは、CreER knock-inに対しては、増幅長が長いので、伸長時間を30秒と短くすることで増幅できないようにしています。また、ヘテロ検出におけるピーク比のバランスをとるために、WT特異的プライマー:knock-in特異的プライマー=1:3として検出の結果、すべてのタイプで増幅が認められジェノタイピングを実施することができました。

### 特長4 高い特異性

プライマーダイマーなどの非特異的反応を抑えることで、低コピー域までの幅広い定量を可能とします。また、弊社リアルタイムPCR用cDNA合成キット「ReverTra Ace® qPCR RTシリーズ」を併用することで安定した検出が得られます。

### 特長5 様々な機器に対応

ブロックタイプの機器 (Fast Modelにも対応) のほか、ガラスキャピラリーを用いる高速サイクラーにも対応しています。また、50×ROX reference dyeが別添付されているため、バシプリファレンスを必要とする機器においても、各機器に適したROX濃度でご使用頂けます。

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
KOD SYBR® qPCR Mix ・KOD SYBR® qPCR Mix ・50×ROX reference dye	1ml×1本 (40回用)	-20°C	QKD-201T	¥9,800
	1.67ml×3本 (200回用)	-20°C	QKD-201	¥32,000
	(1.67ml×3本)×5 (1,000回用)	-20°C	QKD-201X5	¥147,000

※50×ROX reference dyeがマスターミックスとは、別添付されています。  
 ※包装欄に記載の反応回数は、50µl反応時のものです。容量は、KOD SYBR® qPCR Mixのみ示しています。  
 ※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。

#### 関連商品

品名	包装	保存温度	Code No.	価格
リアルタイムPCR用cDNA合成キット ReverTra Ace® qPCR RT Kit	200回用	-20°C	FSQ-101	¥38,000
リアルタイムPCR用cDNA合成キット 完全プレミックスタイプ ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix	200回用	-20°C	FSQ-201	¥38,000
リアルタイムPCR用cDNA合成キット 完全プレミックスタイプ (ゲノムDNA除去試薬付き) ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover	200回用	-20°C	FSQ-301	¥40,000

※包装欄に記載の反応回数は、10µl反応時のものです。