

One Step qPCR Kit

RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix

NEW

1酵素・1ステップ系による迅速・高性能リアルタイムPCR用試薬です。

RNA-direct™ Realtime PCR Master Mixは、Tth DNA polymeraseがMn²⁺存在下において強い逆転写活性を示すことを利用した、単一酵素系によるワンステップリアルタイムPCR用2×マスターミックスです。逆転写反応とPCRとを同一の反応系で連続的に行うため、試薬の分注操作が1回で済み、ハイスループット化に適しています。TaqMan®アッセイ・プローブアッセイ用、及びSYBR® Green用キットから選択いただけます。

一口メモ

Tth DNA polymeraseは好熱細菌： *Thermus Thermophilus* から分離された pol I 型 DNA polymerase です。Mnイオン存在下で、逆転写活性を示すユニークな性質を有しています。

(参考文献)

Biochemistry, 30, : 7661-7666 (1991)

※本酵素の基本特許は弊社が有しています。

特長1 高性能かつハイスループット

・逆転写反応とPCRとを同一の反応系で連続的に行う『1酵素・1ステップ系』であり、RTaseとTaqを用いた『2酵素1ステップ』系などに比べ、効果的にハイスループット実験を構築することができます。さらに、酵素反応条件を最適化することにより、飛躍的な性能の向上を実現しています。

※1ステップ系における逆転写反応にはPCR用のリバースプライマーを使用します。

特長2 難しい配列にも対応

・逆転写反応を高温で実施できるため、立体構造をとりやすい鋳型RNAの検出に適しています。また本酵素はGC-richな鋳型の増幅に有効であることが知られています。

特長3 高い特異性

・抗体を用いたホットスタートシステムを採用しており、非特異反応を抑制します。本システムでの酵素の再活性化は短時間で完了するため、鋳型RNAや酵素への高温によるダメージを最小限に抑えられます。

特長4 様々な装置に対応

・汎用PCRチューブ（プレート）、およびガラスキャピラリーを用いるタイプのリアルタイムPCR機器に対応します。また、本試薬はバシプリファレンス色素が混合されており、蛍光色素での補正が必要な機器へも対応いたします。

1酵素・1ステップ

【単一酵素なので至適条件での反応が可能】

2酵素・1ステップ

【それぞれの酵素の特性が異なるので、至適条件からずれてしまう】

2酵素・2ステップ

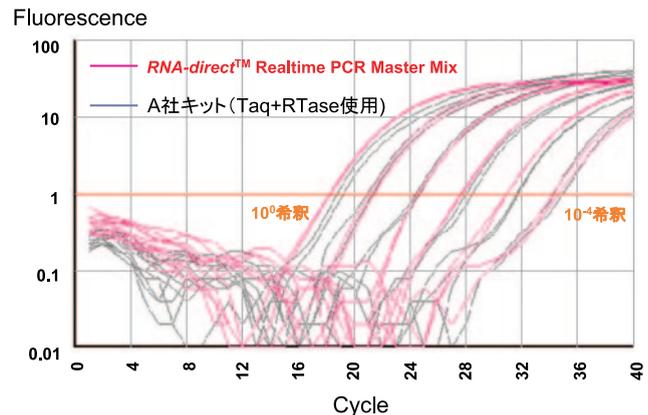
【RT君、早く！】
【一手間多くかかる】

1酵素・1ステップ RT-PCRが優れている理由

実施例1 TaqMan®アッセイによる他社品との性能比較 (装置：BioFlux社 Line Gene使用)

RNA-direct™ VS 2酵素・1ステップ

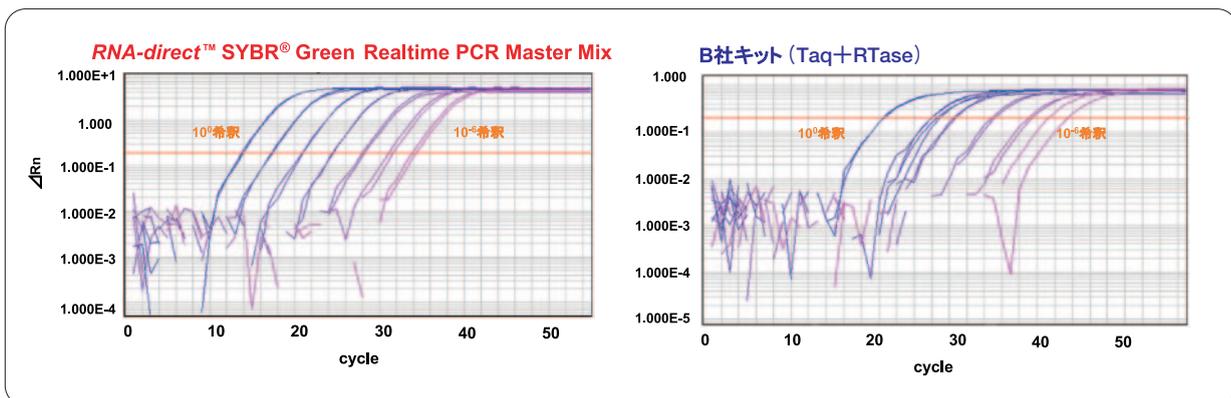
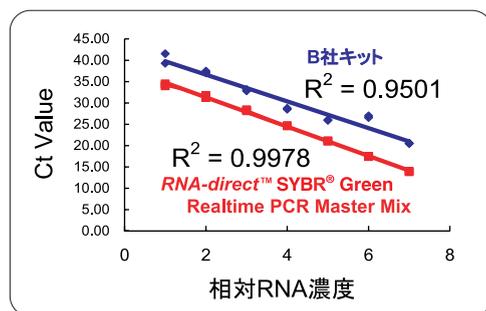
ヒト培養細胞由来mRNA (10ⁿ倍希釈系列 (n=2)) を鋳型とし、TaqMan®アッセイによるβアクトチンmRNAの検出を行いました (10⁰希釈の反応液20μlに5ngのPoly (A)⁺ RNAが含まれるように希釈)。Taq+RTase混合型であるA社試薬と比較して、RNA-direct™ Realtime PCR Master Mixによる反応では、A社試薬推奨の反応条件においても、立ち上がりの早さと直線性において優れた結果を示しました。



実施例2 SYBR® Greenアッセイによる直線性検討 (装置：ABI社 PRISM® 7900HT使用)

RNA-direct™ VS 2酵素・1ステップ

HeLa細胞由来のTotal RNA (10⁰倍希釈系列 (n=2)) を鋳型とし、SYBR® GreenアッセイによるβアクチンmRNAの検出を行いました (10⁰希釈の反応液20 μlに75ngのTotal RNAが含まれるように希釈)。その結果、Taq+RTase混合型であるB社キットと比較して、RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixによる反応では、少なくとも7オーダーの希釈系列において、高い相関性を示しました。

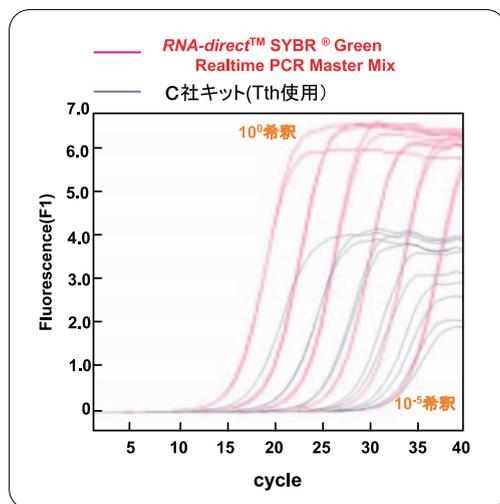


実施例3 SYBR® Greenアッセイによる他社品との性能比較 (装置：Roche社 LightCycler™使用)

RNA-direct™ VS 1酵素・1ステップ

ヒト培養細胞由来Poly (A)⁺ RNA (10⁰倍希釈系列 (n=2)) を鋳型とし、SYBR® GreenアッセイによりG3PDH mRNAの検出を行いました (10⁰希釈の反応液20 μlに5ngのPoly (A)⁺ RNAが含まれるように希釈)。

その結果、同じくTth DNA Polymeraseを使用したC社試薬と比較して、RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixによる検出では、立ち上がりの早さ、シグナルの強度、及び低濃度の鋳型に対する検出感度、何れにおいても大きく上回る性能を示しました。



品名	包装*	保存温度	Code No.	価格**
One-step qPCR Kit (TaqMan® アッセイ・プローブアッセイ用) RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix	40回用 (0.5ml×2) 100回用 (0.5ml×5)	-20℃	QRT-101T QRT-101	¥17,000 ¥33,000
One-step qPCR Kit (SYBR® Greenアッセイ用) RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix	40回用 (0.5ml×2) 100回用 (0.5ml×5)	-20℃	QRT-201T QRT-201	¥17,000 ¥33,000

*1反応50 μlとした場合の使用回数を記載しています。
 **QRT-101もしくはQRT-201を5本セットでお買い上げの場合、¥150,000となります。
 ※RNA-direct™ Realtime PCR Master MixおよびRNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixには、Passive Reference色素があらかじめ混合されています。プレートタイプのPCR機器にそのままご使用いただけますが、Passive Reference色素を使用しないPCR機器への影響もありません。
 ※RNA-direct™ Realtime PCR Master MixおよびRNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixには、必要量の酢酸マンガンを別チューブで添付されます。
 ※PCR (Polymerase Chain Reaction) は、F. Hoffman-La Roche社が米国特許 (特許番号4,683,195および4,683,202) を有しています。PCRの実施に当たっては許可が必要となります。本品はF. Hoffman-La Roche社が有するPCRに関する特許の使用許可を示唆するものではありません。
 ※LightCycler™は、Idaho Technology Inc.並びにRoche Molecular Systems Inc.の商標です。
 ※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。
 ※ABI PRISM®は、The Perkin-Elmer Corporationの登録商標です。