

レア発現遺伝子の解析に最適! 簡便・高効率な cDNA 合成キットです

リアルタイム PCR 用 cDNA 合成試薬

# ReverTra Ace<sup>®</sup> qPCR RT Master Mix シリーズ

無償サンプル(40回用)を  
ご用意しております。

## cDNA 合成用 Master Mix

**特長** ✓ 5× プレミックスcDNA合成試薬

−20℃においても凍結しない完全プレミックスタイプの逆転写試薬です。

✓ 幅広いダイナミックレンジを実現

最適化された Primer Mix(Oligo dTとRandom primer)と Buffer 組成の改良により、偏りのない安定な逆転写が可能です。また、検出感度が向上しており、リアルタイム PCR 解析において、広いレンジで高い直線性を得ることができます。

✓ リアルタイム PCR 試薬との高い適合性

リアルタイムPCR 反応液に最大 20% まで逆転写反応液を持ち込むことが可能であり、さらにレア発現遺伝子の検出率を高めることができます。

✓ わずか 15 分で逆転写反応完了

逆転写反応はわずか 15 分で完了。RNase H 処理などは必要ありません。

✓ no-RT Control を付属

更に簡便に解析を  
行いたい方に最適!



- 5×RT Master Mix
- 5×RT Master Mix no-RT Control
- Nuclease-free Water

ReverTra Ace<sup>®</sup> qPCR RT Master Mix  
[Code No. FSQ-201] (200 回用, 10 μL 反応)

## ゲノム DNA 除去試薬 + Master Mix

RNA サンプル

↓ gDNA除去反応  
(DNAの分解)

そのまま!

↓ cDNA合成

cDNA (gDNA-free)

↓  
リアルタイム PCR

**特長**

上記 Master Mix バージョンの特長に加えて、

- ✓ ゲノム DNA (gDNA) 除去機能付き
- ✓ 除去反応後そのまま cDNA 合成

ゲノム DNA の影響を  
受けやすい実験に最適!



- gDNA Remover
- 4×DN Master Mix
- 5×RT Master Mix II
- 5×RT Master Mix II no-RT Control
- Nuclease-free Water

ReverTra Ace<sup>®</sup> qPCR RT Master Mix  
with gDNA Remover  
[Code No. FSQ-301] (200 回用, 10 μL 反応)

RNA サンプルからの gDNA 除去を、ワンステップ除去反応で簡単・便利に解決!

# ■ cDNA 合成用 Master Mix

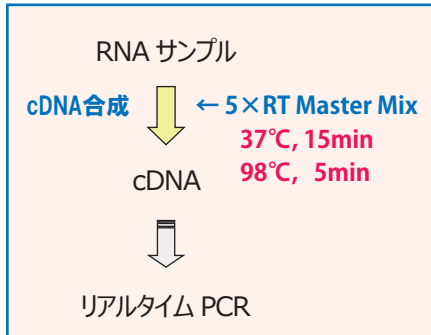
## ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix [Code No. FSQ-201] (200 回用, 10 μL 反応)



- 5×RT Master Mix
- 5×RT Master Mix no-RT Control
- Nuclease-free Water

ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix [Code No. FSQ-201] は、高効率逆転写酵素「ReverTra Ace®」を用いて開発された、リアルタイム PCR 用の逆転写反応キットです。逆転写反応に必要な成分を全て含んだ 5× 濃度の完全プレミックス試薬であり、鋳型 RNA と水を添加するだけで、迅速に反応を開始することができます。また、リアルタイム PCR のターゲットとなる短鎖 cDNA の合成に最適化された反応組成とプライマーミックスの採用により、リアルタイム PCR に適した cDNA 鋳型を短時間で効率良く調製することが可能です。

### ■ プロトコール



#### no-RT-control について

プレミックス cDNA 合成試薬は、逆転写反応 (-) 条件のコントロールが取れないことが欠点の一つです。

そこで、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix シリーズでは、マスターミックスから逆転写酵素のみを除去した no-RT control を添付しています。このコントロール溶液を用いることにより、容易にコントロール実験を行うことが可能です。

RNA に微量混入したゲノム DNA からの増幅がバックグラウンドとなり、特に、レア発現遺伝子の定量が妨げられる場合などが知られています。そのような場合、厳密なコントロール実験を行われることをお勧めいたします。

### 実施例 1 他社プレミックス cDNA 合成試薬との逆転写反応効率 (cDNA 合成量) の比較

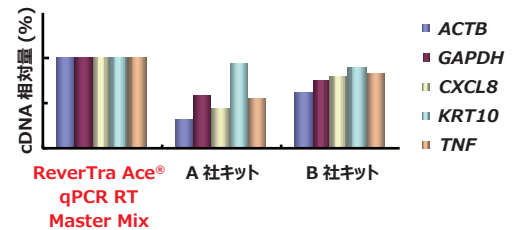
HeLa total RNA 100ng を鋳型に、各社キットの推奨条件にて逆転写反応を行い、続いてリアルタイム PCR にて 5 種類のターゲットの定量を行いました。その結果、本キットを用いることで最も高い収量が得られることが示されました。

#### ● cDNA 合成

試薬: ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix  
及び他社プレミックス試薬  
鋳型: HeLa total RNA 100ng /10μL 反応系  
条件: 各社キットの推奨条件に従って実施

#### ● リアルタイム PCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix  
[Code No. QPS-201]  
鋳型: 上記 cDNA 2μL/20μL 反応系 (持込量 10%)  
Target: 代表的な遺伝子 5 種  
測定: Applied Biosystems® 7900HT



### 実施例 2 鋳型 RNA 量に対する合成効率の検討 (検量線の直線性の確認)

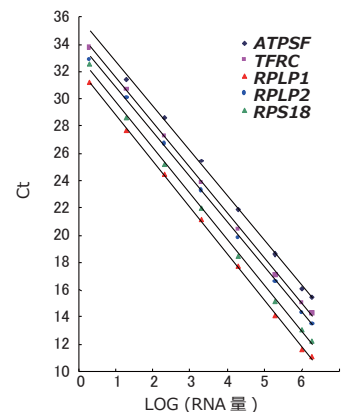
鋳型 RNA 量に対する逆転写合成効率を評価するため、HeLa total RNA 2pg~2μg (8水準) を鋳型に逆転写反応を行ない、続いてリアルタイム PCR にて 5 種類のターゲットの定量を行いました。その結果、5 種類のターゲットの検量線が交差することなく、かつ高い直線性を示しました。このことから、広い RNA 濃度範囲にわたって、同等な効率にて逆転写ができていたことが示されました。

#### ● cDNA 合成

試薬: ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix  
鋳型: HeLa total RNA 2pg~2μg /20μL 反応系

#### ● リアルタイム PCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix [Code No. QPS-201]  
鋳型: 上記 cDNA 2μL/20μL 反応系 (持込量 10%)  
Target: 代表的な House Keeping Gene 5 種  
測定: Applied Biosystems® 7900HT



# ■ ゲノム DNA 除去試薬 + Master Mix

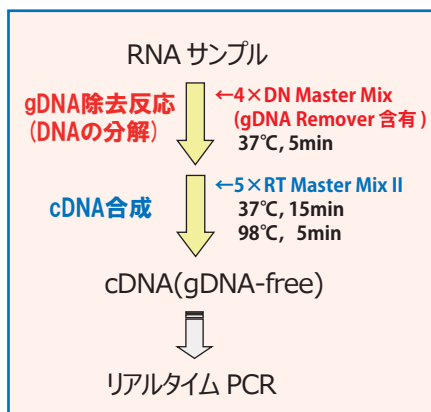
## ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [Code No. FSQ-301] (200 回用, 10 μL 反応)

- gDNA Remover
- 4×DN Master Mix
- 5×RT Master Mix II
- 5×RT Master Mix II no-RT Control
- Nuclease-free Water



ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [Code No. FSQ-301] は、強力な DNA 分解活性を有する gDNA Remover を付属しており、逆転写反応前に鋳型 RNA を処理することによって、ゲノム DNA フリーの cDNA を簡便に調製することができます。検出するターゲットに偽遺伝子が存在する場合や、イントロンをまたぐ位置にプライマーを設定できない場合など、ゲノム DNA の残存が問題となるリアルタイム PCR 実験に最適です。

### ■ プロトコール



### 実施例 3 従来品 (ゲノム DNA 除去機能なし) との直線性の比較

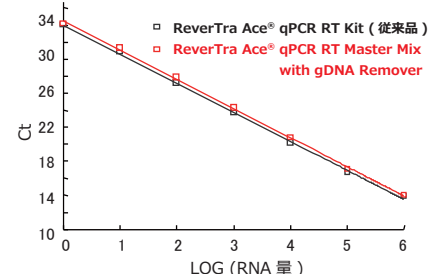
HeLa total RNA (1pg~1μg) を鋳型に、各キットの推奨条件にて逆転写反応を行いました。この際、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [Code No. FSQ-301] を用いる場合のみ、100 ng のヒトゲノム DNA を混入しました。その結果、本キットにおいて、ゲノム DNA の混入の影響を受けず、従来品と同様の定量域で解析できることが分かりました。

#### ● cDNA 合成

試薬: ReverTra Ace® qPCR RT Kit (従来品)  
ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover  
鋳型: Template: HeLa total RNA (1pg~1μg) /20μL 反応系  
(FSQ-301 のみヒト gDNA 100ng を反応系に添加)

#### ● リアルタイム PCR

試薬: THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix  
[Code No. QPS-201]  
鋳型: 上記 cDNA 2μL/20μL 反応系 (持込量 10%)  
Target: GAPDH (65bp)  
測定: Applied Biosystems® 7900HT



## 実施例 4 gDNA Remover によるゲノム DNA 除去効果の確認

gDNA Remover によるゲノム DNA の除去効果を確認するため、下記の条件にて逆転写反応を行い、続いてβ-Actin 遺伝子をターゲットにリアルタイム PCR を行いました。その結果、gDNA Remover 処理 (+)、逆転写酵素 [RTase] (-) (右記③) の条件では増幅が見られないことから、確実にゲノム DNA が除去されていることが示されました。

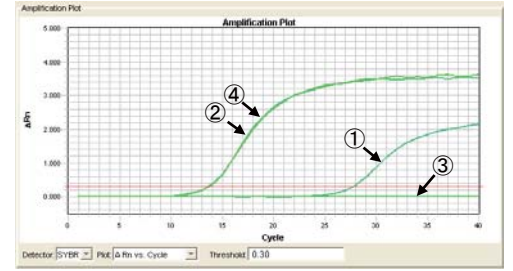
### ●cDNA 合成

試薬：ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [Code No.FSQ-301]  
 鋳型：自家調製した HeLa total RNA 0.5μg /10μL 反応系  
 条件：gDNA Remover 添加 (+)、あるいは無添加 (-) の 4×DN Master Mix を用いて gDNA 除去反応を行った後、それぞれをさらに、5×RT Master Mix II あるいは 5×RT Master Mix II no-RT Control を用いて逆転写反応を実施

### ●リアルタイム PCR

試薬：THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix [Code No.QPS-201]  
 鋳型：上記 cDNA 2μL/20μL 反応系 (持込量 10%)  
 Target：ACTB (188bp)  
 測定：Applied Biosystems® 7900HT

	4×DN Master Mix	5×RT Master Mix
①	gDNA Remover (-)	RTase (-)
②	gDNA Remover (-)	RTase (+)
③	gDNA Remover (+)	RTase (-)
④	gDNA Remover (+)	RTase (+)



## 実施例 5 同タイプ他社品とのゲノム DNA 除去能の比較

HeLa total RNA に大過剰のヒトゲノム DNA を添加したモデル実験にて、同タイプの他社キットとのゲノム DNA 除去能の比較を行いました。その結果、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover が最もゲノム DNA 除去能に優れていることが示されました。

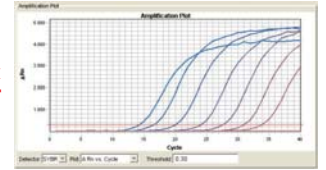
### ●cDNA 合成

試薬：ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover [Code No.FSQ-301]  
 および同タイプの他社キット 2 種  
 鋳型：HeLa total RNA (0, 1pg, 10pg, 100pg, 1ng, 10ng, 100ng, 1μg)  
 +ヒト gDNA 100ng/20μL 反応系  
 条件：各社キットの推奨条件に従って実施

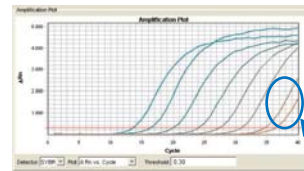
### ●リアルタイム PCR

試薬：THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix [Code No.QPS-201]  
 鋳型：上記 cDNA 2μL/20μL 反応系 (持込量 10%)  
 Target：ACTB (188bp)  
 測定：Applied Biosystems® 7900HT

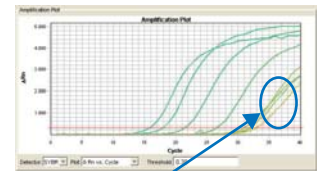
ReverTra Ace®  
qPCR RT Master Mix  
with gDNA Remover



A 社キット



C 社キット

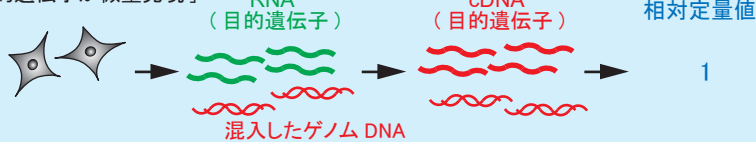


ゲノム DNA  
由来の増幅

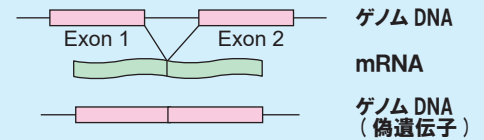
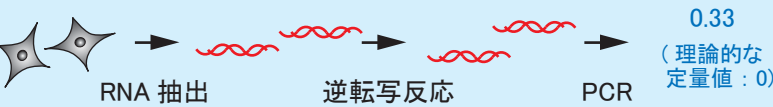
### [ ゲノム DNA 混入の RT-PCR への影響について ]

RNA 抽出法によらず、抽出した RNA には微量のゲノム DNA (gDNA) の混入がみられます。よって、単一エクソン中にプライマーを設計する場合や目的遺伝子に偽遺伝子 (Pseudogene) が存在する場合などは、gDNA から同サイズの PCR 産物が生じ、正確な定量の妨げになります。そこで、特に微量発現遺伝子を解析するような場合、cDNA を合成する前に、RNA から gDNA を除去しておく必要があります。

[ 目的遺伝子が微量発現 ]



[ 目的遺伝子の発現なし ]



+ + - - (DNase I 処理)  
M + - + - (逆転写反応)



電気泳動解析結果 (RT-PCR)

DNase I 処理の有無による HeLa 細胞由来 cDNA サンプルからの G3PDH 遺伝子の増幅例 ※G3PDH 遺伝子には偽遺伝子が存在します。

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格 (税別)
ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix ・ 5×RT Master Mix ・ 5×RT Master Mix no-RT Control ・ Nuclease-free Water	200 回用 (10μL 反応)	-20°C	FSQ-201	¥38,000
ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover ・ gDNA Remover ・ 4×DN Master Mix ・ 5×RT Master Mix II ・ 5×RT Master Mix II no-RT Control ・ Nuclease-free Water	200 回用 (10μL 反応)	-20°C	FSQ-301	¥40,000
ReverTra Ace® qPCR RT Kit < 従来品 > ・ 5×RT Buffer ・ Enzyme Mix ・ Primer Mix ・ Nuclease-free Water	200 回用 (10μL 反応)	-20°C	FSQ-101	¥38,000

サンプル

サンプルマークの付いている製品は、評価用の無償サンプルをご用意しています。



サンプル請求

※5×RT Master Mix と 5×RT Mix II は組成が異なります。互換性がありませんのでご注意ください。



高効率リアルタイム PCR 用マスターミックス  
**THUNDERBIRD® qPCR Mix**  
 (サンダーバード)

ReverTra Ace® qPCR RT シリーズと合わせて使用することで、より良好な結果が期待できます。

● **特長 1 高い特異性 (プライマーダイマーの低減)**

バッファーに改良を加えることにより、SYBR® Green I、および TaqMan® アッセイにおいて、低コピー数のターゲットの検出感度、定量性が向上しました。

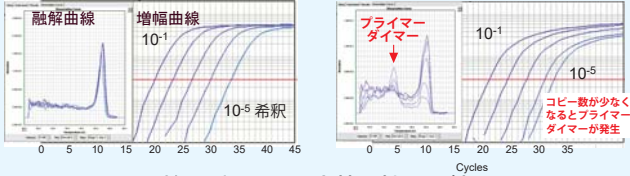
● **特長 2 広いレンジでの検出が可能 (高効率)**

新規エンハンサーを採用し、ターゲットごとの PCR 効率のばらつきを最小限に抑えることにより、広いダイナミックレンジを実現しています。

● **特長 3 さまざまな機器に対応**

THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix

A 社試薬



SYBR® Green I 検出系による反応特異性の比較  
 (Applied Biosystems® 7900HT 使用)

プライマーダイマーが発生しやすいプライマーセットを用いて、各リアルタイム PCR 試薬による反応特異性の比較を行いました。HeLa 細胞 Total RNA から合成した cDNA を用いてヒトβ-Actin 遺伝子 (188 bp) を増幅しました。

Applied Biosystems®	ABI PRISM® 7000 / 7700 Applied Biosystems® 7300 / 7500 / 7500 Fast / 7900HT / StepOne™ / StepOnePlus™ / ViiA™7 / QuantStudio®	Bio-Rad/MJ	iCycler iQ® MiniOpticon™ CFX96 Touch™
		Agilent Technologies	Mx3000P™ Mx3005P™ Mx4000™
		TaKaRa	Thermal Cycler Dice®
		BioFlux	Line Gene
Roche Diagnostics	LightCycler® 1.x / 2.0 / Nano / 96 / 480		

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格 (税別)
(TaqMan® アッセイ用) <b>THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix</b> ・ THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix ・ 50 × ROX reference dye	1.67mL × 3 本 (500 回用, 20 μL 反応)	-20°C	QPS-101	¥29,000
(SYBR® Green I アッセイ用) <b>THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix</b> ・ THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix ・ 50 × ROX reference dye	1.67mL × 3 本 (500 回用, 20 μL 反応)	-20°C	QPS-201	¥29,000

品名および内容 (セット品)	包装	保存温度	Code No.	価格 (税別)
<b>THUNDERBIRD® Probe qPCR/RT Set II</b> THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS101/FSQ201	¥63,000
<b>THUNDERBIRD® SYBR® qPCR/RT Set II</b> THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS201/FSQ201	¥63,000
<b>THUNDERBIRD® Probe qPCR/RT Set III</b> THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS101/FSQ301	¥65,000
<b>THUNDERBIRD® SYBR® qPCR/RT Set III</b> THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS201/FSQ301	¥65,000
<b>THUNDERBIRD® Probe qPCR/RT Set</b> THUNDERBIRD® Probe qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Kit (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS101/FSQ101	¥63,000
<b>THUNDERBIRD® SYBR® qPCR/RT Set</b> THUNDERBIRD® SYBR® qPCR Mix (500 回用) と ReverTra Ace® qPCR RT Kit (200 回用) とのセット	1 セット	-20°C	QPS201/FSQ101	¥63,000

本品は、THUNDERBIRD® qPCR Mix (¥29,000 → ¥27,300) と ReverTra Ace® qPCR RT kit (¥38,000 → ¥35,700)、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix (¥38,000 → ¥35,700)、もしくは ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (¥40,000 → ¥37,700) のセット販売品です。

※ 本資料に記載している会社名および商品名・ロゴマークなどは、各社の商号、商標または登録商標です。

**TOYOBO 東洋紡株式会社**

バイオプロダクト営業部

(E-mail) order\_lifescience@toyobo.jp

(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 Towers・サウス  
 TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

(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

(E-mail) tech\_osaka@toyobo.jp

TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833

(9:00 ~ 12:00 13:00 ~ 17:00 [土日祝日、休日を除く])

WEBサイト

[https://lifescience.toyobo.co.jp/]



公式 twitter