

高効率 PCR Kit

Hot Start rTth (DNA) Kit

本試薬は、Tth DNA Polymerase を使用した PCR 試薬です。

Tth DNA Polymerase は、汎用酵素である Taq DNA Polymerase と比べ、増幅効率が高く、微量な核酸からの増幅や PCR 阻害物質を含むクルードサンプルからの増幅が可能です。

また Tth DNA Polymerase は、5'→3' Exonuclease 活性を有するため、TaqMan®アッセイなどのプローブアッセイを用いたリアルタイム PCR にも利用することができます。本試薬には、中和抗体が混合されており、特異性の高い Hot start PCR を行うことができます。

特長

● 優れた DNA 増幅効率

Tth DNA Polymerase をベースに反応組成を最適化し、微量の鋳型からでも効率よく PCR を行うことができます。

● クルードサンプルに強い

PCR 阻害物質を含むクルードなサンプル（生体試料、土壌、食品など）からの増幅に優れます。血液などでは、核酸を抽出することなく直接反応液に加えるだけで十分な増幅が可能です。

● dUTP 含有

本試薬の 2x Buffer for rTth/ TTx (DNA) 中には dUTP が含まれています。Uracil-N-Glycosylase(UNG)*を添加することで、キャリアオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止することができます。

* UNG は本製品中には含まれません。

1. 内容物

品名	内容量	保存温度
2 × Buffer for rTth/ TTx (DNA)	2x 1.25 mL	-20℃
Hot Start rTth DNA Polymerase (4U/ μL)	62.5 μL	-20℃

本試薬には、パッシブリアレンス用蛍光色素(ROX)は含まれておりません。Applied Biosystems 社製機器や Agilent Technologies 社製機器などでウェル間の蛍光強度および分注誤差補正のためパッシブリアレンスを使用する場合は、別売品である 50 × ROX reference dye(Code No. ROX-101)をお使いください。

2x Buffer for rTth/ TTx (DNA)

緩衝剤、塩類、Mg²⁺、dATP、dCTP、dGTP、dUTP などを含む、2 × 濃度の反応溶液です。

鋳型 DNA、プライマー、添付の Hot Start rTth DNA Polymerase を加え、滅菌水などで 1 × 濃度に調製して使用してください。

融解後はよく混和し、均質化した上で使用してください。

Hot Start rTth DNA Polymerase

rTth DNA Polymerase とホットスタート用抗体を含む酵素溶液です。4U/ μL の濃度に調製されています。

※TaqMan®は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。

2. 安全上の注意

本製品は、研究用試薬です。診断および臨床検査用試薬として使用しないでください。また、本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。関係する実験において、人体に有害な試薬を扱う場合も予想されます。各試薬に添付されている注意書き、機器・器具に添付されている取扱説明書の指示を順守し、必要に応じて適切な保護具をご使用になりますようお願いいたします。

3. 反応液の調製

20 μ L 反応での試薬調製例です。

- ・凍結している試薬は完全に融解してからご使用ください。
- ・反応液を調製する前に各試薬を十分混合してからご使用ください。

Components	Volume	Final Concentration
2x Buffer for rTth/ TTx (DNA)	10 μ L	1x
PCR Forward Primer (10 μ M)	0.6 μ L	0.3 μ M
PCR Reverse Primer (10 μ M)	0.6 μ L	0.3 μ M
TaqMan [®] Probe (10 μ M)	0.4 μ L	0.2 μ M
Hot Start rTth DNA Polymerase	0.25 μ L	1U
Template DNA (Sample)	X μ L	
Autoclaved, distilled water	to 20 μ L	

全ての液を添加した後、反応液を十分混合してからサーマルサイクラーにセットしてください。

プライマーの添加量は各々最終濃度 0.2-0.6 μ M、TaqMan[®]プローブの添加量は最終濃度 0.05-0.3 μ M を目安にご検討ください。増幅効率がよくない場合、添加量を増やすことによりパフォーマンスが向上する場合がありますが、逆に入れすぎると非特異反応の原因となり、検出感度が低下する場合があります。

4. 反応条件

qPCR のサイクル例です。必要に応じて条件を調整してください。

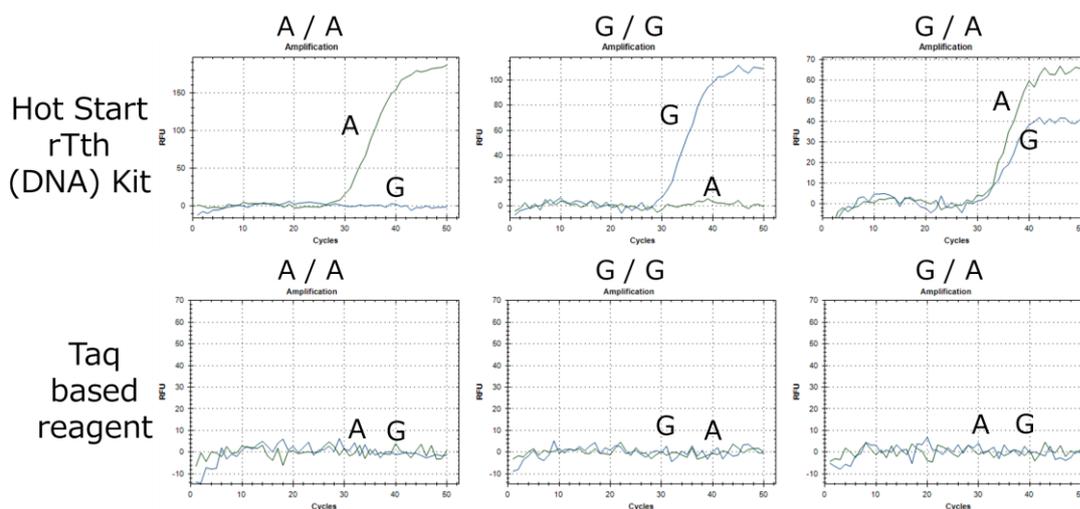
Pre-denature :	95°C, 1 min.	
Denature :	95°C, 15 sec.	← 40~50 cycles
Annealing/ Extension :	60°C, 30 sec.	

UNG 処理を行う場合は、Pre-denature 反応の前に、UNG 反応のステップを設定してください。UNG の反応は各社の推奨条件に従って調整してください。

Annealing/ Extension の温度は、55~65°C の範囲で検討いただくと検出感度等が改善する場合があります。

5. 実施例

TaqMan®プローブを用いて、血液を鋳型にアルデヒドデヒドロゲナーゼ2(ALDH2)遺伝子の SNP を検出しました。20 μL の反応液に1 μL の血液を添加し反応に供した結果、Taq DNA Polymerase ベースの試薬では血液の阻害を受け、増幅が確認できませんでした。一方、本試薬においては、遺伝子型に由来するシグナルが確認できました。血液から DNA を精製することなく、SNP を判断でき、大幅に検査時間を短縮することができました。



6. 関連商品

品名	包装	Code No.
<高効率 PCR・RT-PCR 用酵素> Hot Start rTth DNA Polymerase	10,000 U	HSTTH-329
<DNA 増幅用 rTth/ TTx 反応 Buffer (Mg ²⁺ 含有)> 2x Buffer for rTth/ TTx (DNA)	100 mL 250 mL 1,000 mL	QRZ-1B1 QRZ-1B2 QRZ-1B4
<パッシブプリファレンス用蛍光色素> 50× ROX reference dye	5 mL	ROX-101

【製造・販売元】

—価格・在庫に関するお問い合わせ—

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

E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 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
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp