

# ●THUNDERBIRD® SYBR™ qPCR Mixの使用条件 [ABI QuantStudio™ 12K Flex 高速サイクル]

## (1)反応液の調製

以下に、50 µlおよび25 µl反応時の調製例を示します。

試薬	50µl反応	25µl反応	最終濃度
滅菌水	X µl	X µl	
THUNDERBIRD® SYBR™ qPCR Mix	25 µl	12.5 µl	1x
Forward Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM*1
Reverse Primer	15 pmol	7.5 pmol	0.3 µM*1
50X ROX reference dye	0.1 µl	0.05 µl	0.1x
DNA溶液	Y µl	Y µl	
合計液量	50 µl	25µl	

\*1:プライマー・プローブの発売元から、添加濃度が指定されている場合は、発売元の指定条件に従ってください。増幅効率が不十分な場合は、プライマー濃度を増やすことで、また非特異反応が発生する場合(低濃度の鋳型での反応で増幅曲線の立ち上がりが悪くなる場合)は、プライマー濃度を減らすことで、反応結果が改善することがあります。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)PCRサイクル条件設定

ステップ	温度	時間	昇降速度
初期変性	94° C	20秒	最大
PCR (40 cycles)	変性 95° C 伸長 60° C*2	1~3秒 20~30秒	最大 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)			

\*2:十分な増幅効率が得られない場合は温度を低めに、非特異的の反応が発生する場合(鋳型濃度が低いサンプルで、増幅曲線の形状がゆがむ場合)は温度を高めに設定することで、反応が改善されることがあります。56~64° Cの範囲を目安にご検討ください。

## TOYOBO 東洋紡株式会社

遺伝子試薬・診断薬事業部 (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

遺伝子試薬・診断薬事業部 (東京)  
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目17番10号  
京橋 One Terrace

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.toyobo.co.jp/>

