

## ●THUNDERBIRD® Next Probe qPCR Mixの使用条件 [Roche LightCycler 480 : 高速サイクル]

### (1)反応液の調製

以下に TaqMan® Probe を用いた50  $\mu$ Lおよび20  $\mu$ L反応時の調製例を示します。

| 試薬                                      | 50 $\mu$ L反応          | 20 $\mu$ L反応 | 最終濃度          |
|---|-----------------------|--------------|---------------|
| 滅菌水                                     | X $\mu$ L             | X $\mu$ L    |               |
| THUNDERBIRD® Next Probe qPCR Mix        | 25 $\mu$ L            | 10 $\mu$ L   | 1x            |
| Forward Primer                          | 15 pmol               | 6 pmol       | 0.3 $\mu$ M*1 |
| Reverse Primer                          | 15 pmol               | 6 pmol       | 0.3 $\mu$ M*1 |
| TaqMan® Probe<br>(Uracil-N-Glycosylase) | 10 pmol<br>(0.4 unit) | 4 pmol       | 0.2 $\mu$ M*1 |
| DNA溶液                                   | Y $\mu$ L             | Y $\mu$ L    |               |
| 合計液量                                    | 50 $\mu$ L            | 20 $\mu$ L   |               |

\*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  $\mu$ M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     |
|--------------------|------------------------|-----------|----------|
| (UNG反応)            | (20~25° C)             | (10分)     | (最大)     |
| 初期変性               | 95° C                  | 30秒       | 最大       |
| PCR<br>(40 cycles) | 変性 95° C<br>伸長 60° C*2 | 5秒<br>10秒 | 最大<br>最大 |

(Data Collectionは伸長ステップに設定します)

\*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

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

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

### 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/

