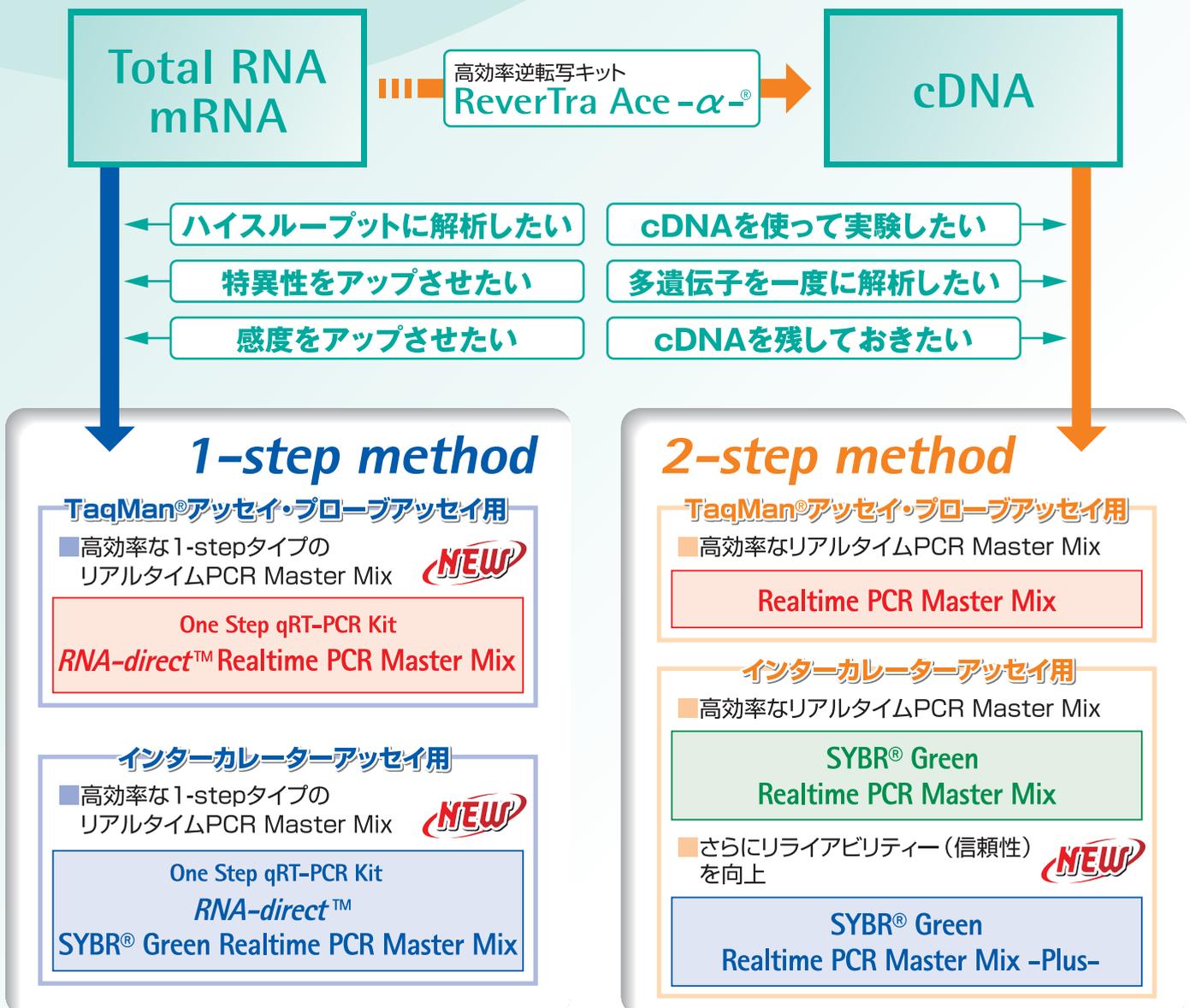


より良いリアルタイムPCR解析のために。



# リアルタイムPCR解析ガイド

Realtime PCR Master Mixシリーズ  
RNA-direct™ シリーズ



## 全てのキットは...

- 抗体を用いたホットスタート法に対応しています。⇒プライマーダイマー生成などの副反応が低減されます。
- ガラスキャピラリーを用いる装置や、パッシブリファレンスの必要な装置など、様々な装置に対応します。

# 1-step method

# RNA-direct™ シリーズ

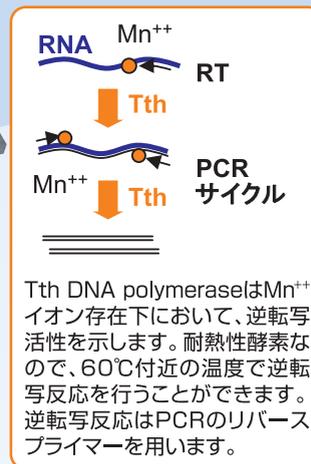
RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix **NEW**  
 RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix **NEW**

逆転写活性を示すTth DNA polymeraseをベースとして開発された、1酵素・1-step用のリアルタイムPCR Master Mixです。逆転写反応液をPCR反応液に移し替える工程がなく、ハイスループット解析に向きます。また、高温で逆転写反応ができるため、従来の2酵素・1-step系や2酵素・2-step系に比べ特異性をアップさせることができます。

※Tth DNA polymeraseの基本特許は弊社が保有しております。



キット外観: Master Mix (青)、と酢酸マンガン溶液 (橙) がアルミ袋で遮光包装されている。  
 \*酢酸マンガンはRNA-direct™シリーズのみへの添付となります。



Tth DNA polymeraseはMn<sup>++</sup>イオン存在下において、逆転写活性を示します。耐熱性酵素なので、60℃付近の温度で逆転写反応を行うことができます。逆転写反応はPCRのリバースプライマーを用います。

## 実施例

### 1

## TaqMan®アッセイによる他社品 (2酵素・1-step系) との比較

- サンプル** ヒト培養細胞由来Poly(A)<sup>+</sup>RNA (10<sup>n</sup>倍希釈系列 (n=2))
- 使用キット** RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix  
A社 2酵素・1-stepキット (RTase+Taq使用)
- 測定機器** BioFlux社 LineGene
- ターゲット** β-actin mRNA
- 結果** A社の2酵素・1-stepキットに比べ、立ち上がり速度、および直線性において優れていることが分かりました。

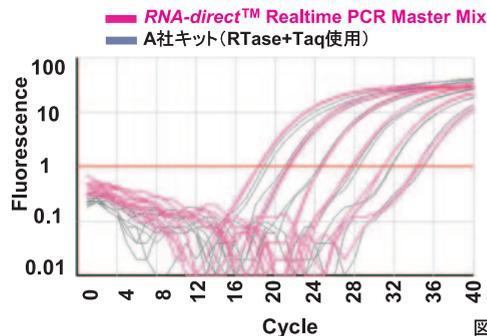


図1

## 実施例

### 2

## SYBR® Greenアッセイによる他社品との性能比較

- サンプル** HeLa細胞由来Total RNA (10<sup>n</sup>倍希釈系列 (n=2))
- 使用キット** RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix  
B社 2酵素・1-stepキット (RTase+Taq使用)
- 測定機器** Applied Biosystems 7900HT
- ターゲット** β-actin mRNA
- 結果** B社キットに比べ、感度、直線性に優れる結果でした。

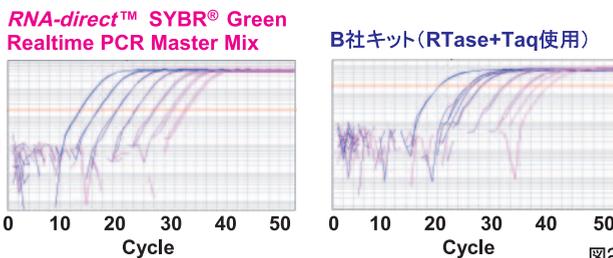


図2

- サンプル** ヒト培養細胞由来Poly(A)<sup>+</sup>RNA (10<sup>n</sup>倍希釈系列 (n=2))
- 使用キット** RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix  
C社 1酵素・1-stepキット (Tth使用)
- 測定機器** Roche社 LightCycler™
- ターゲット** G3PDH mRNA
- 結果** 同じくTth DNA Polymeraseを用いたC社キットに比べ、感度、増幅効率に優れる結果でした。

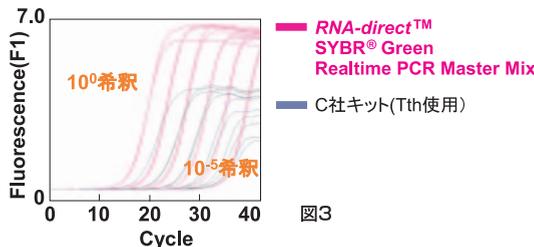


図3

## 実施例

### 3

## SYBR® Greenアッセイによるプロテインキナーゼ遺伝子の定量

- サンプル** ヒト組織由来Total RNA  
 ・RNA-direct™ ⇒ 50ng, 200ng (2種類の濃度で検討)  
 ・SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus- ⇒ 10ng相当\* <2-step系> \*逆転写はReverTra Ace -α-使用
- 使用キット** RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix  
 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-
- 測定機器** Applied Biosystems 7900HT
- 定量方法** PKCδの発現量をβ-actinの量で補正して算出
- 結果** 2-step法と同じ傾向でmRNA相対量を定量することができました。

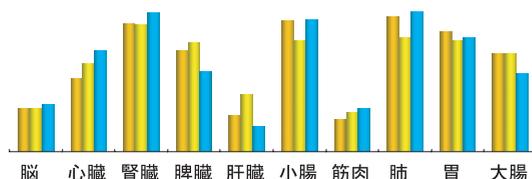


図4 1-step反応系と2-step反応系の比較 (PKCδ)

黄色のバーはRNA-direct™による結果 (Total RNA: 50ng (左), 200ng (右))。青色のバーが2-step反応系での結果 (Total RNA 10ng相当の逆転写反応液を使用)。縦軸は相対発現量を示す。

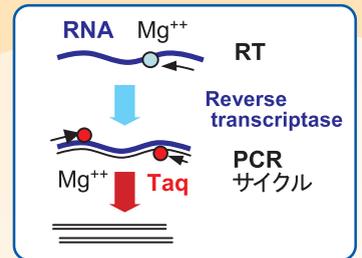
※2-step系の増幅にはBioFlux社LineGeneを使用しました。

## 2-step method

# Realtime PCR Master Mix シリーズ

Realtime PCR Master Mix  
 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix  
 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus- **NEW**

Taq DNA polymeraseをベースとした汎用性の高いリアルタイムPCR Master Mixです。SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-は、組成をさらに最適化することでリアルタイムPCRの信頼性（信頼性）を向上させています。高効率逆転写キット『ReverTra Ace -α-®』を用いることで、より良好な結果を得ることが可能です。（基本的にはどの逆転写酵素も使用可能です）



### 実施例

## 1

### 2<sup>n</sup>希釈の定量性の検証

- サンプル** マウスβ-actin cDNAの2倍希釈系列(500~16コピーまでの6水準)
- 使用キット** SYBR® Green Realtime PCR Master Mix
- 測定機器** BioFlux社 LineGene
- ターゲット** β-actin cDNA
- 結果** 検量線を作成したところ相関係数-0.9999となり、精度良く2<sup>n</sup>希釈サンプルの定量ができることが確認できました。

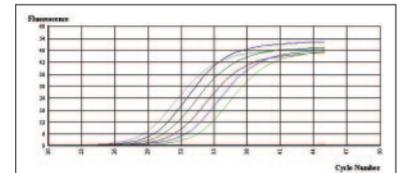


図5 2倍希釈系列の増幅曲線

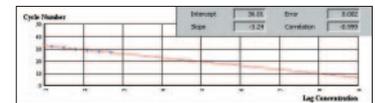


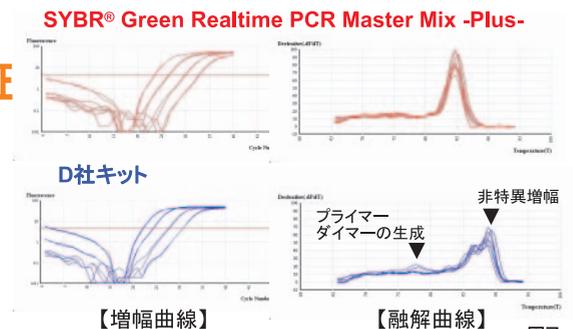
図6 2倍希釈系列の検量線

### 実施例

## 2

### SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-の特異性の検証

- サンプル** げっ歯類由来ゲノムDNA
- 使用キット** SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-
- 測定機器** BioFlux社 LineGene
- ターゲット** 遺伝子A 約80bp (ダイマーの出やすい組み合わせで増幅)
- 結果** D社のキットに比べ、Ct値も等間隔であり、測定可能範囲も広い傾向を示しました。



【増幅曲線】

【融解曲線】

図7

### 実施例

## 3

### Realtime PCR Master Mixを用いたTaqMan® アッセイ

- サンプル** HeLa細胞 Total RNA(100ng)の逆転写産物の5倍ずつの段階希釈
- 使用キット** Realtime PCR Master Mix
- 測定機器** Applied Biosystems 7700
- ターゲット** β-actin cDNA
- 結果** Ct値が等間隔で良好な増幅結果が得られました。

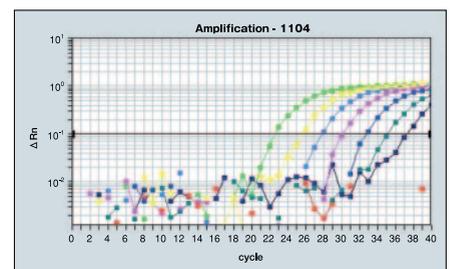


図8 段階希釈系列の増幅曲線

Real Time Monitoring Fluorescent Quantitative Detection System

## LineGene



## 核酸増幅リアルタイムモニタリング装置好評発売中!!

### コストパフォーマンス良好

- 専用チューブやキャピラリー不要 (汎用0.2mlチューブを使用可能)
- 反応ボリュームは10μl~
- 0.2mlチューブ×33本に対応

### 多様な系に対応

- SYBR® Green I, TaqMan® probe (リポーター:FAM, クエンチャー:TAMRA等)、Hybridization probes, Molecular Beacon等に対応
- 励起波長:470nm
- 検出波長:530nm, 640nm, 710nm

### 高感度オプティカルユニット

- 励起用光源に、発熱性が低く安定、長寿命のBlue LED採用。検出器に高感度、低ノイズのPMTを採用

### ソフトウェア

- 増幅曲線のリアルタイム表示
- ランニング中にグラフスケールを変更可能
- 反応中にサイクルを1サイクル単位で削除・追加可能
- 定量解析、融解曲線解析可能
- 測定の実データをダウンロード可能

販売中止

# 1-step用リアルタイムPCR試薬

品名	包装*	Code No.	保存	価格
<b>RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix</b> (2×濃度) 酢酸マンガン溶液別添) 【TaqMan®・プローブアッセイ用】	100回用 (0.5ml×5本) 40回用 (0.5ml×2本)	QRT-101 QRT-101T	-20℃	¥33,000 ¥17,000 <b>NEW</b>
<b>RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix</b> (2×濃度) 酢酸マンガン溶液別添)	100回用 (0.5ml×5本) 40回用 (0.5ml×2本)	QRT-201 QRT-201T	-20℃	¥33,000 ¥17,000 <b>NEW</b>

## 2-step用リアルタイムPCR試薬・関連商品

品名	包装*	Code No.	保存	価格
<b>Realtime PCR Master Mix</b> (2×濃度) 【TaqMan®・プローブアッセイ用】	200回用 (1ml×5本) 40回用 (1ml×1本)	QPK-101 QPK-101T	-20℃	¥37,000 ¥10,000
<b>SYBR® Green Realtime PCR Master Mix</b> (2×濃度)	200回用 (1ml×5本) 40回用 (1ml×1本)	QPK-201 QPK-201T	-20℃	¥37,000 ¥10,000
<b>SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-</b> (2×濃度) 【バージョンアップ品】	200回用 (1ml×5本) 40回用 (1ml×1本)	QPK-211 QPK-211T	-20℃	¥37,000 ¥10,000 <b>NEW</b>
高効率逆転写キット <b>RevaTra Ace -α-</b> (逆転写酵素+dNTPs他)	100回用	FSK-101	-20℃	¥53,000
高効率逆転写酵素 <b>ReverTra Ace®</b>	10,000U×1本 10,000U×5本	TRT-101 TRT-102	-20℃	¥15,000 ¥60,000
<b>Oligo (dT)<sub>20</sub> Primer</b>	1nmole	FSK-201	-20℃	¥8,000
<b>Random Primer (9mer)</b>	2.5nmoles	FSK-301	-20℃	¥8,000
<b>RNase Inhibitor (Native type)</b>	2,500U×1本 2,500U×5本	SIN-101 SIN-102	-20℃	¥9,000 ¥36,000
<b>RNase Inhibitor (Recombinant type)</b>	2,500U×1本 2,500U×5本	SIN-201 SIN-202	-20℃	¥9,000 ¥36,000

\*リアルタイムPCR Master Mixの使用回数は50μl反応を基準に記載しています。

※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。

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

※ABI PRISM®は、Applied Biosystems Inc.の登録商標です。 ※LightCycler™は、Idaho Technology Inc.の商標です。

## 測定機器

訪問デモ実施中 → 弊社ウェブサイト(お問い合わせ・ご請求コーナー) からご依頼いただけます。



品名	包装	Code No.	保存	価格
核酸増幅リアルタイムモニタリング装置 <b>LineGene</b> (本体+ソフトウェア)	一式	BFFQD-33A	室温	¥1,890,000

販売中止

\*詳細な情報は弊社ウェブサイト、もしくはwww.bioflux.comをご覧ください。解析ソフトウェア等をダウンロードすることも可能です。

製品及び原理等でご不明な点がございましたら。  
下記問い合わせ先までお気軽にお問い合わせください。

↓ (ウェブサイトをリニューアルして見やすくなりました)

**TOYOBO**

**東洋紡績株式会社**

ライフサイエンス事業部 (大阪)  
〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目2番8号  
TEL.06-6348-3786 FAX.06-6348-3833  
E-mail order\_lifescience@bio.toyobo.co.jp

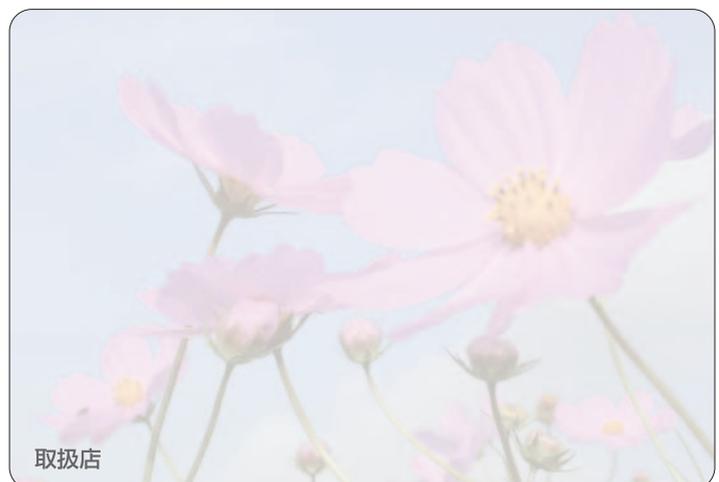
ライフサイエンス事業部 (東京)  
〒103-8530 東京都中央区日本橋小網町17番9号  
TEL.03-3660-4819 FAX.03-3660-4951  
E-mail order\_lifescience@bio.toyobo.co.jp

**Toyoboテクニカルライン**  
TEL.06-6348-3888  
(9:00~12:00 13:00~17:00 (土・日・祝を除く))  
FAX.06-6348-3833  
E-mail techosk@bio.toyobo.co.jp

Toyobo Web Site

[ <http://www.toyobo.co.jp/bio> ]

**PCRは  
東洋紡**



取扱店