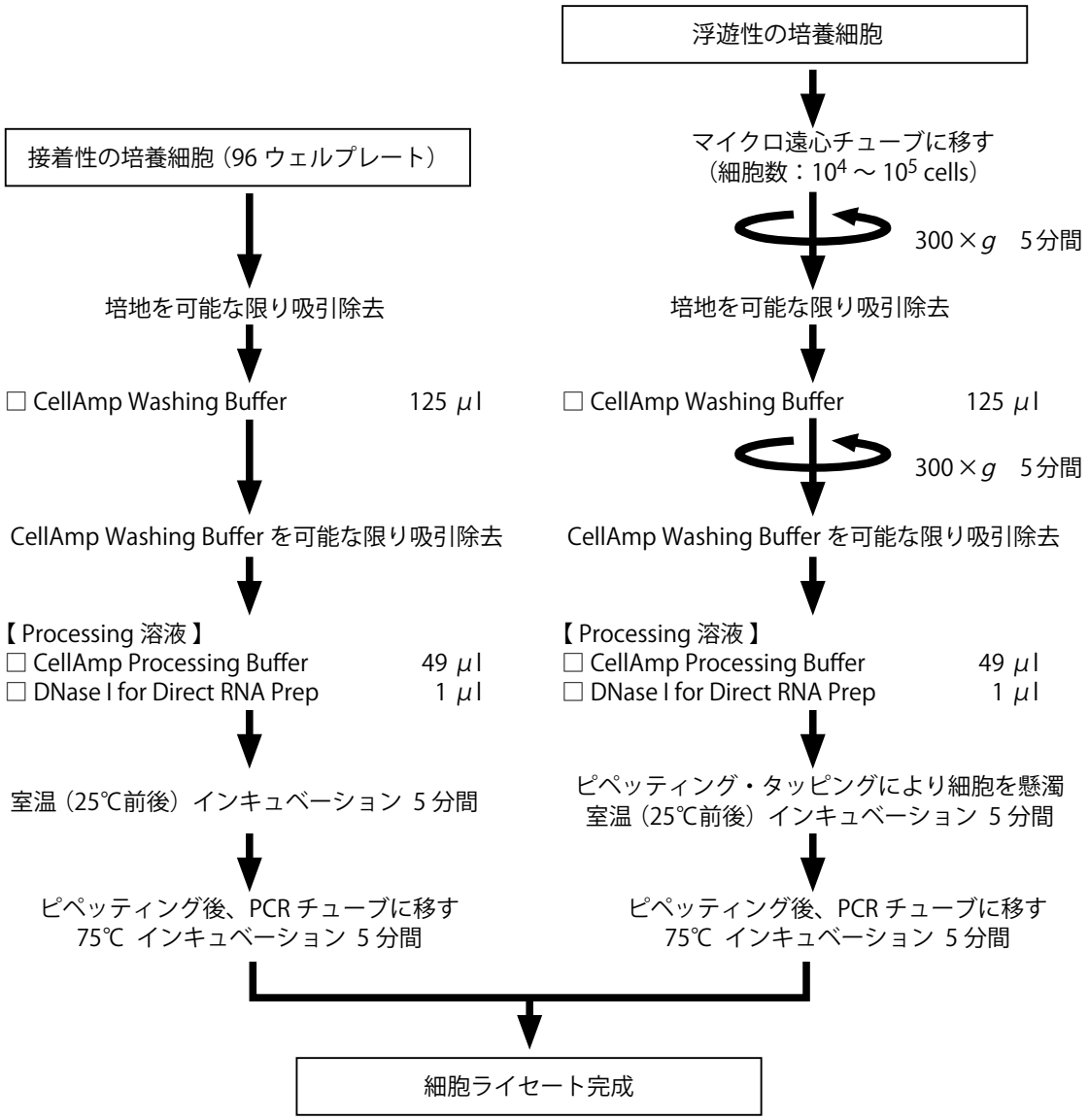
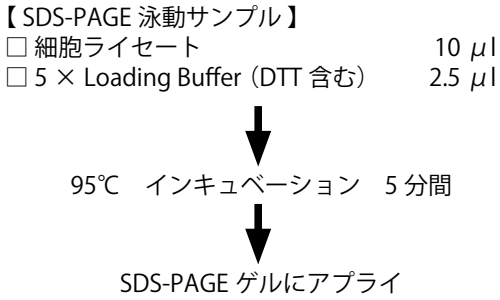
CellAmp Direct Prep Kit for RT-PCR (Real Time) & Protein Analysis 実験操作フロー
接着性・浮遊性の培養細胞からのライセート調製方法



SDS-PAGE 泳動サンプルの調製方法



1 ステップ・2 ステップリアルタイム RT-PCR 実験操作例フロー

1 ステップリアルタイム RT-PCR

1反応あたり1～2 μlの細胞ライセートを
反応チューブまたはプレートに添加する

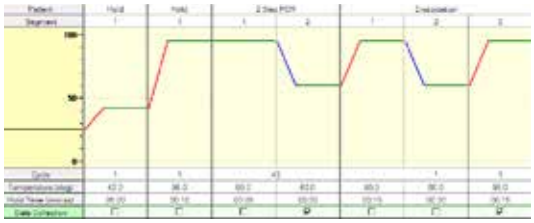
↓

One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit
（製品コード RR066A/B）
[Master Mix]
＜ 1 反応あたり ＞

□ RNase Free dH_2O	8.5 ～ 9.5 μl
□ 2 × One Step TB Green RT-PCR Buffer III	12.5 μl
□ PCR Forward Primer (10 μM)	0.5 μl
□ PCR Reverse Primer (10 μM)	0.5 μl
□ PrimeScript RT Enzyme Mix II	0.5 μl
□ *TaKaRa Ex Taq* HS	0.5 μl

↓

反応を開始する



Pattern 1 : 逆転写反応
　Hold
　42℃　5 分
　95℃　10 秒
Pattern 2 : PCR 反応
　Cycles : 40
　95℃　5 秒
　60℃　30 秒
Pattern 3 : Dissociation

↓

反応終了後、解析を行う

2 ステップリアルタイム RT-PCR

PrimeScript RT reagent Kit（製品コード RR037A/B）
[Master Mix]
＜ 1 反応あたり ＞

□ RNase Free dH_2O	4.5 ～ 5.5 μl
□ 5× PrimeScript Buffer (for Real Time)	2.0 μl
□ Oligo dT Primer (50 μM)	0.5 μl
□ Random 6 mers (100 μM)	0.5 μl
□ PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 μl

↓

1反応あたり1～2 μlの細胞ライセートを添加する

↓

37℃　15 分（逆転写反応）
85℃　5 秒（逆転写反応を熱失活させる）
4℃

↓

1 反応あたり 2 μl の逆転写反応液を
反応チューブまたはプレートに添加する

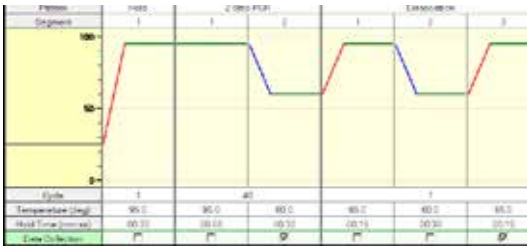
↓

TB Green *Premix Ex Taq* II（製品コード RR820S/A/B）
[Master Mix]
＜ 1 反応あたり＞

□ 滅菌精製水	8.5 μl
□ PCR Forward Primer (10 μM)	1.0 μl
□ PCR Reverse Primer (10 μM)	1.0 μl
□ TB Green *Premix Ex Taq* II (2 ×)	12.5 μl

↓

反応を開始する



Pattern 1 :（初期変性）
　Hold
　95℃　30 秒

Pattern 2 : PCR 反応
　Cycles : 40
　95℃　5 秒
　60℃　30 秒
Pattern 3 : Dissociation

↓

反応終了後、解析を行う