

## タイトル: ヒト由来cDNAを鋳型としたqPCR反応比較(2)

カテゴリ: リアルタイムPCR (定量PCR、qPCR)

キーワード: リアルタイムPCR、RNaseH、SYBR、プレミックス、定量PCR、PRSS

データソース: タカラバイオ株式会社

### 方法:

ヒト由来cDNAを鋳型として各社高速反応タイプのリアルタイムPCR試薬を用いて反応を行った。

使用機器: Thermal Cycler Dice® Real Time System II (製品コード [TP900/TP960](#))

弊社試薬:

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (製品コード [RR037A/B](#))

SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus) (製品コード [RR420A/B](#))

Template: HL60 total RNA

Primers: [Perfect Real Timeサポートシステム \(PRSS\)](#) で設計

反応組成) <1反応あたり>

試薬	使用量	最終濃度
SYBR Premix Ex Taq II (2 ×)	12.5 μl	1 ×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM
Template(cDNA合成反応液)	2 μl	
滅菌精製水	9.5 μl	
total	25 μl	

<リアルタイム反応条件>

Holding

Cycle: 1  
95°C、30秒

2 Step PCR

Cycle: 40  
95°C、5秒  
60°C、30秒

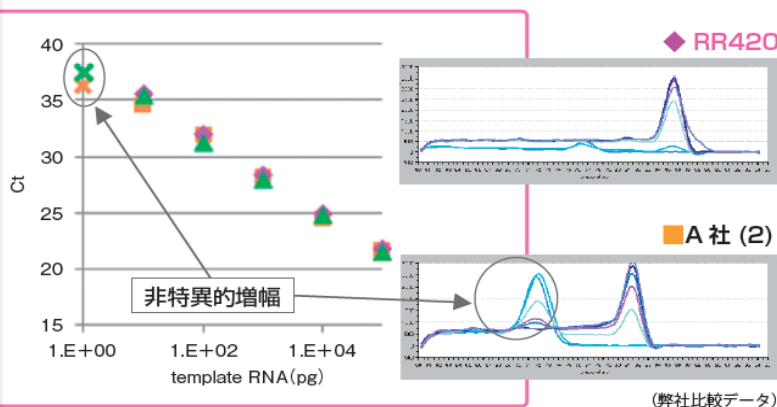
Dissociation

### 結果:

SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus) は他社の同タイプ(高速反応タイプ)に比べて非特異的増幅が起こりにくく、より正確な定量が可能であった。

◆ RR420    ■ A社(2)    ▲ B社

ターゲット: PGK1 (GC 54%)



### 備考: ● 関連製品

SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) [[RR820A/B](#)]

SYBR® Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time) [[RR091A/B](#)]

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) [[RR037A/B](#)]

PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) [[RR036A/B](#)]

PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) [[RR047A/B](#)]

#### ● 参考文献

吉崎美和, 向井博之 (2005) 実験医学別冊 バイオ実験で失敗しない! 「検出と定量のコツ」, 第3章 核酸の検出と定量のコツ 4. リアルタイム定量PCRのコツ, 120-126

吉崎美和, 向井博之 (2008) 実験医学別冊 原理からよくわかる「リアルタイムPCR実験ガイド」 [3] 1) リアルタイムRT-PCR法による遺伝子発現解析, 39-43