

## タイトル: 逆転写反応時間の影響(1)

カテゴリ: リアルタイムPCR (定量PCR、qPCR)

キーワード: 逆転写、cDNA、RT、PrimeScript

データソース: タカラバイオ株式会社

## 方法:

Total RNAを鋳型としPrimeScript® RT reagent Kit (Perfect Real Time) ([製品コード RR037](#))を用いて、逆転写反応の時間とcDNA合成量を確認した。

### ●逆転写反応 (20 µl反応系)

鋳型 : マウス肝臓由来total RNA 2 pg ~ 2 µgおよび滅菌水

プライマー : Random 6 mers

反応条件 : 37 °C 15、30、60分 → 85 °C 5秒 → 4 °C

試薬 : SYBR® *Premix Ex Taq*™ (Perfect Real Time)

鋳型 : 上記の逆転写反応液 各2 µl

測定遺伝子 : Actb

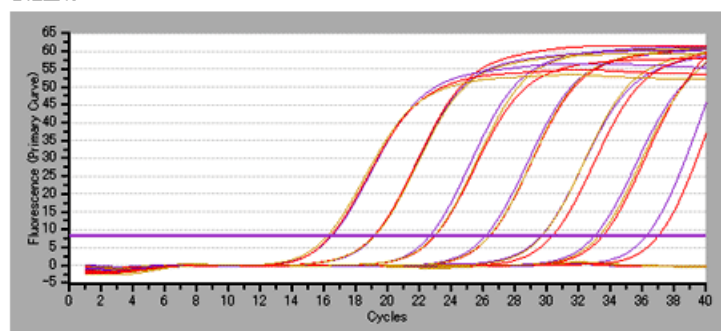
プライマー : Perfect Real Timeサポートシステム設計プライマーを使用

反応条件 : Thermal Cycler Dice® Real Time System標準プロトコール

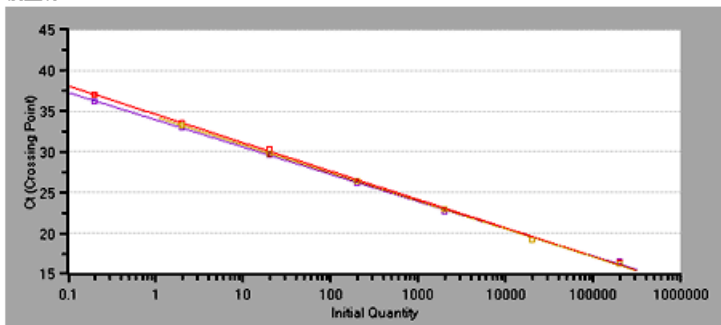
## 結果:

反応時間15分、30分、60分のいずれでも、広い鋳型濃度範囲にわたって同等な効率で反応できた。

増幅曲線



検量線



15分(紫) R2:0.999 Eff=98.7%  $Y = -3.522 * \text{LOG}(X) + 33.94$

30分(赤) R2:0.999 Eff=93.3%  $Y = -3.495 * \text{LOG}(X) + 34.61$

60分(茶) R2:0.999 Eff=95.2%  $Y = -3.441 * \text{LOG}(X) + 34.28$

**備考:** EASY Dilution (for Real Time PCR) ([製品コード 9160](#))、SYBR® *Premix Ex Taq*™ II (Tli RNaseH Plus) ([製品コード RR820](#))、SYBR® *Premix Ex Taq*™ (Tli RNaseH Plus) ([製品コード RR420](#))、SYBR® *Premix DimerEraser*® (Perfect Real Time) ([製品コード RR091](#))、PrimeScript® RT Master Mix (Perfect Real Time) ([製品コード RR036](#))、PrimeScript® RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) ([製品コード RR047](#))