

Perfect Real Time サポートシステム リアルタイム RT-PCR 用プライマー

使用するリアルタイム PCR 試薬の取扱説明書も必ずご確認ください。

●リアルタイム RT-PCR 用プライマー

本製品は、ヒト、マウス、ラット、ウシ、イヌ、ニワトリ、イネ、シロイヌナズナの RefSeq 登録遺伝子または Ensembl Plants 登録遺伝子に対して設計されたリアルタイム RT-PCR 用のプライマーである。PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR037A/B) と、TB Green® *Premix Ex Taq*™ II (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR820S/A/B) *を用いた 2 ステップリアルタイム RT-PCR の標準 PCR 条件に最適化されており、リアルタイム PCR 装置各機種 (※) で使用できる。
なお、本製品は、cDNA に対して設計されたプライマーであり、ゲノム DNA の検出には適していない。

【ご参考】

本製品は、TB Green Premix シリーズのその他の試薬 (製品コード RR420、RR430、RR091、RR071) *でも、それぞれの標準 PCR 条件で使用できます。また、One Step TB Green PLUS PrimeScript RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR096A/B) *などの 1step リアルタイム RT-PCR 試薬でもご使用いただけますが、プライマーによっては十分なパフォーマンスが得られない場合があります。その場合は上記キットを用いた 2 ステップ RT-PCR をお試しください。

* : タカラバイオでは、インターカレーター法のリアルタイム PCR (qPCR) 試薬の製品名を 2017 年 10 月下旬より順次、「TB Green シリーズ」に名称変更いたします。製品コードや試薬の性能に変更はありません。これまで通りご使用ください。なお、ロット切り替え時の変更となりますので、製品ラベルやチューブラベルに先行してウェブサイト、取扱説明書の記載が変更になる場合があります。ご了承ください。

※ 本製品の適応機種

- Thermal Cycler Dice® Real Time System III (製品コード TP950/TP970/TP980)
 - Thermal Cycler Dice Real Time System Lite (製品コード TP700/TP760)
 - Applied Biosystems 7300/7500/7500 Fast Real-Time PCR System、StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 社)
 - LightCycler (Roche Diagnostics 社)
- など

注 : Smart Cycler II System (Cepheid 社) には、TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR420A/B) の使用を推奨します。

●内容

Forward primer (50 pmol/μl)

Reverse primer (50 pmol/μl)

(TE buffer に溶解)

※ 検出される遺伝子やプライマー情報の詳細は、ご注文後ウェブサイト (Perfect Real Time サポートシステム) でご確認ください。

(URL <http://www.takara-bio.com/jp/realtime/>)

また、同ウェブサイトのご注文履歴から再注文をご利用いただけます。

●保存

- 20℃

(適宜小分けして保存し、凍結融解を繰り返さない。)

●使用方法

本製品の一部をとって、Forward primer、Reverse primer のそれぞれ 10 pmol/μl (10 μM) の溶液を調製し、リアルタイム PCR に最終濃度 0.1 ~ 1 μM で使用する。

●リアルタイム PCR 反応液の調製

< TB Green *Premix Ex Taq* II (Tli RNaseH Plus) と Thermal Cycler Dice Real Time System II を用いる場合 >

[1 反応あたり]

試薬	使用量 (または添加量)	最終濃度
TB Green <i>Premix Ex Taq</i> II (Tli RNaseH Plus) (2 ×)	12.5 μl	1 ×
PCR Forward Primer (10 μM)	1.0 μl	0.4 μM*1
PCR Reverse Primer (10 μM)	1.0 μl	0.4 μM*1
template (cDNA 溶液)	2.0 μl *2	
滅菌精製水	8.5 μl	
Total	25 μl	

* 1 : TB Green *Premix Ex Taq* II (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR820S/A/B) を使用する場合、まず最終濃度 0.4 μM で試す。

* 2 : cDNA 溶液 (RT 反応液) の持ち込みは、反応液量の 1/10 以下とする。

●サイクリング条件

< Thermal Cycler Dice Real Time System II を使用する場合 >

1. 初期変性 サイクル数 : 1
95℃ 30 秒
2. PCR 反応 サイクル数 : 40
95℃ 5 秒
60℃ 30 秒*3
3. 融解曲線分析

* 3 : StepOnePlus では 30 秒に、7300 Real-Time PCR System では 31 秒に、7500 Real-Time PCR System では 34 秒に設定する。7500 Fast Real-Time PCR System では、PCR 反応を [95℃ 3 秒、60℃ 30 秒] 40 サイクルに設定する。

条件の詳細については TB Green *Premix Ex Taq* II (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR820S/A/B) の取扱説明書をご参照ください。

●注意

リアルタイム RT-PCR には高純度に精製した RNA サンプルを使用してください。total RNA サンプルに混在するゲノム DNA も PCR の鋳型となりえますので、total RNA サンプルは確実に DNase I 処理をして用いてください。

プライマー使用時には、鋳型の代わりに滅菌精製水を添加した No Template Control を並行して反応し、非特異的増幅の有無をご確認ください。

TB Green、Thermal Cycler Dice はタカラバイオ株式会社の登録商標です。
Premix Ex Taq、PrimeScript はタカラバイオ株式会社の商標です。

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201903

タカラバイオ株式会社

ウェブサイト <http://www.takara-bio.com/jp>

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999
Fax 077-565-6995