

製品コード R075A

研究用

---

**Takara**

**MightyAmp™ for Real Time  
(TB Green® Plus)**

---

説明書

v202202Da

MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) は、インターカレーター法によるリアルタイム PCR 専用試薬です。2×濃度のプレミックスタイプ試薬で、リアルタイムモニタリングに適した濃度のインターカレーター TB Green をあらかじめ含んでおり、反応液の調製が簡単です。本製品は、PCR 酵素に極限の反応性を追求して開発した MightyAmp DNA Polymerase を用いています。これによりクルードなサンプルや GC 含量が 70% を超えるターゲット、エンドポイント PCR 用プライマーをそのまま利用する 300 bp を超える増幅サイズ (~2 kb) のリアルタイム PCR など、これまでリアルタイム PCR を行うことが困難であった実験系に対して反応性が非常に向上しました。

(注意) 本製品は特殊用途用に開発された製品です。標準的なサンプル、ターゲットに対するリアルタイム PCR 解析には TB Green Premix シリーズの製品 (製品コード RR820A/RR420A/RR430A/RR091A/RR071A) をご使用ください。

#### 本製品の適応機種

- Thermal Cycler Dice® Real Time System // (製品コード TP900/TP960 : 終売)
- Thermal Cycler Dice Real Time System *Lite* (製品コード TP700/TP760 : 終売)
- CronoSTAR™ 96 Real-Time PCR System (製品コード 640231/640232)
- CronoSTAR Portable Real-Time PCR System (製品コード 640245/640247/640249)
- Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 社)
- StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 社)
- LightCycler (Roche Diagnostics 社) など

## I. 原理

本製品では、MightyAmp DNA Polymerase による PCR 増幅を行います。PCR 増幅産物は、TB Green によりリアルタイムでモニタリングできます。

### 1. PCR

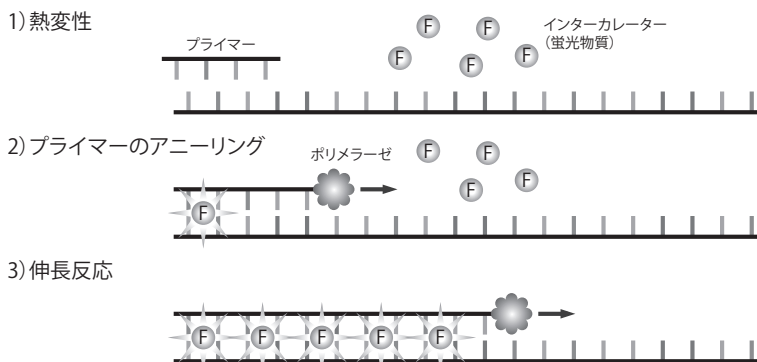
PCR 法は微量 DNA から目的の遺伝子断片のみを増幅させる技術です。DNA の熱変性、プライマーのアニーリング、DNA ポリメラーゼによる伸長反応の 3 ステップからなる工程を 1 サイクルとし、これを繰り返すことで、短時間のうちに目的遺伝子断片を 100 万倍にまで増幅させることが出来ます。本製品で使用している MightyAmp DNA Polymerase は 98℃ までポリメラーゼ活性を抑制する強力なモノクローナル抗体を用いたホットスタート PCR に対応しています。

### 2. 蛍光検出法

インターカレーター法

二本鎖 DNA に結合することで蛍光を発する試薬 (インターカレーター: TB Green など) を反応系に加え、増幅に伴う蛍光を検出する方法です。

ポリメラーゼ反応によって合成された二本鎖 DNA にインターカレーターが結合すると、蛍光を発します。この蛍光強度を検出することで、定量だけでなく増幅 DNA の融解温度を測定することもできます。



## II. 内容 (200 回分、50 $\mu$ l 反応系)

MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 $\times$ conc.)* <sup>1</sup>	1 ml $\times$ 5
ROX Reference Dye (50 $\times$ conc.)* <sup>2</sup>	200 $\mu$ l
ROX Reference Dye II (50 $\times$ conc.)* <sup>2</sup>	200 $\mu$ l

\* 1 : MightyAmp DNA Polymerase、dNTP Mixture、Mg<sup>2+</sup>および TB Green を含む。

\* 2 : Applied Biosystems のリアルタイム PCR 装置など、ウェル間の蛍光シグナルの補正を行う装置で解析する場合に使用します。

◆ ROX Reference Dye を添加する機種

- StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 社)

◆ ROX Reference Dye II を添加する機種

- Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 社)

◆ 添加の必要がない機種

- Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズ  
(製品コード TP900/TP960/TP700/TP760 : 終売)
- CronoSTAR 96 Real-Time PCR System (製品コード 640231/640232)
- CronoSTAR Portable Real-Time PCR System  
(製品コード 640245/640247/640249)
- LightCycler (Roche Diagnostics 社)

### 本製品以外に必要な試薬、機器 (主なもの)

1. リアルタイム PCR 装置 (authorized instruments)
2. 専用反応チューブあるいはプレート
3. PCR 用プライマー
4. 滅菌水
5. マイクロピペットおよびチップ (オートクレーブ処理したもの)

## III. 保存

4°C保存 : 6 ヶ月安定

必ず遮光してください。また、コンタミネーションには十分注意してください。

※ 本製品はドライアイス直付けでお届けします。

長期保存する場合は、-80°Cで保存してください。(-20°C保存は避けてください。) いったん融解したものは4°C保存し、6 ヶ月を目途にご使用ください。

## IV. 特長

1. リアルタイム PCR により、遺伝子の検出、定量を迅速かつ正確に行うことが可能です。
2. TB Green があらかじめミックスしてある 2  $\times$  conc. のプレミックス試薬です。プライマーとテンプレートと滅菌水を加えるだけでインターカレーター法によるリアルタイム PCR を行うことができます。
3. PCR 酵素には、MightyAmp DNA Polymerase を用いており、従来のリアルタイム PCR を行うことが難しかった次のようなケースに対して良好な反応が期待できます。
  - 生体粗抽出液などのクルードサンプル
  - GC 含量が 70% を超える PCR 増幅領域
  - エンドポイント用 PCR プライマーを利用する 300 bp を超える増幅サイズ (~ 2 kb) のリアルタイム PCR

---

## V. 操作上の注意

**本製品を使用する場合の注意事項です。使用前に必ずお読みください。**

1. 使用時には、泡立てないよう緩やかに転倒混合し、試薬を均一にしてから使用してください。試薬組成に偏りがあると十分な反応性が得られなくなります。  
ボルテックスによる混合は行わないでください。

なお、MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 × conc.) を -80℃ 保存した場合、保存中に白色～黄白色の沈殿を生じることがあります。軽く手で温めるか、遮光して室温にしばらく置いた後、転倒混合することで完全に溶解します。  
沈殿が生じたままでは、試薬組成に偏りができますので、必ず均一に混合してからご使用ください。

2. 反応液調製時には、試薬を氷上に置いてください。
3. 本製品はインターカレーター TB Green を含んでいます。反応液調製時に強い光をあてないように注意してください。
4. 反応液の調製、分注を行うときは必ず新しいディスポーザブルチップを用い、サンプル間のコンタミネーションを極力防止してください。

## VI. 操作

### 【Thermal Cycler Dice Real Time System シリーズを用いる場合の操作方法】

※各装置の取扱説明書に従って操作してください。

#### 1. 下記に示す PCR 反応液を調製する。

< 1 反応あたり >

試薬	使用量	最終濃度
MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 ×)	12.5 μl	1 ×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM*1
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM*1
template (< 100 ng)*2	2 μl	
滅菌水	9.5 μl	
Total	25 μl*3	

\* 1 : 最終プライマー濃度は 0.2 μM で良い結果が得られる場合が多いが、反応性に問題があるときは 0.1 ~ 1.0 μM の範囲で最適な濃度を検討すると良い。

\* 2 : template 溶液中に存在するターゲットのコピー数により異なる。段階希釈して適当な添加量を検討する。DNA template 100 ng 以下を用いることが望ましい。また、RT-PCR で cDNA (RT 反応液) を template として添加する場合は、PCR 反応液容量の 10% 以下になるようにする。

\* 3 : 反応液量は 25 μl を推奨。

#### 2. 反応を開始する。

PCR 反応は、下記の標準プロトコルで行うことをお勧めします。まずはこのプロトコルを試し、必要に応じて PCR 条件を至適化してください。PCR 条件を至適化する場合は、9 ページの「PCR 条件について」をご参照ください。

Pattern	Hold	3 Step PCR				Dissociation		Dissociation
Segment	1	1	2	3	1	2	3	
Temperature (deg)	98.0	98.0	60.0	68.0	98.0	60.0	98.0	
Hold Time (mm:ss)	02:00	00:10	00:15	00:30	00:15	00:30	00:15	
Data Collection	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Ramp Rate (deg/sec)	Default	Default	Default	Default	Default	Default	Default	
Increment Temp (deg)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
Increment Time (sec)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

#### 標準プロトコル

Hold (初期変性)

Cycle : 1  
98°C 2分

3 Step PCR

Cycle : 40  
98°C 10秒  
60°C 15秒  
68°C 1分/kb\*4

Dissociation

\*4 : 500 bp 以下は  
30秒

#### ※ 使用上の注意

本製品に使用している MightyAmp DNA Polymerase は強力なホットスタート抗体を使用しているため、必ず 98°C 2 分の初期変性を行い、抗体を熱変性させてください。

#### 3. 反応終了後、増幅曲線と融解曲線を確認し、定量を行う場合は検量線を作成する。

解析方法は、Thermal Cycler Dice Real Time System の取扱説明書をご参照ください。

---

## 【 Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System および StepOnePlus Real-Time PCR System を用いる場合の操作方法 】

※各装置の取扱説明書に従って操作してください。

### 1. 下記に示す PCR 反応液を調製する。

< 1 反応あたり >

試薬	使用量	使用量	最終濃度
MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 ×)	10 $\mu$ l	25 $\mu$ l	1 ×
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M*1
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M*1
ROX Reference Dye (50 ×) or Dye II (50 ×)*3	0.4 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 ×
template*2	2 $\mu$ l	4 $\mu$ l	
滅菌水	6.8 $\mu$ l	18 $\mu$ l	
Total	20 $\mu$ l*4	50 $\mu$ l*4	

\* 1 : 最終プライマー濃度は 0.2  $\mu$ M で良い結果が得られる場合が多いが、反応性に問題があるときは 0.1 ~ 1.0  $\mu$ M の範囲で最適な濃度を検討する。

\* 2 : template 溶液中に存在するターゲットのコピー数により異なる。段階希釈して適当な添加量を検討する。20  $\mu$ l あたり DNA template 100 ng 以下を用いることが望ましい。また、RT-PCR で cDNA (RT 反応液) を template として添加する場合は、PCR 反応液容量の 10% 以下になるようにする。

\* 3 : ROX Reference Dye II (50 ×) は、ROX Reference Dye (50 ×) より濃度を低く設定している。7500 および 7500 Fast Real-Time PCR System で解析する場合には、ROX Reference Dye II (50 ×) の使用を推奨する。  
StepOnePlus には、ROX Reference Dye (50 ×) を使用する。

\* 4 : 各装置の推奨容量に従って調製する。

2. 反応を開始する。

PCR 反応は、下記の標準プロトコールで行うことをお勧めします。まずはこのプロトコールを試し、必要に応じて PCR 条件を最適化してください。PCR 条件を最適化する場合は、9 ページの「PCR 条件について」をご参照ください。

< Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System、StepOnePlus >

標準プロトコール

Stage 1：初期変性

Reps：1

98°C 2分

Stage 2：PCR 反応

Reps：40

98°C 10秒

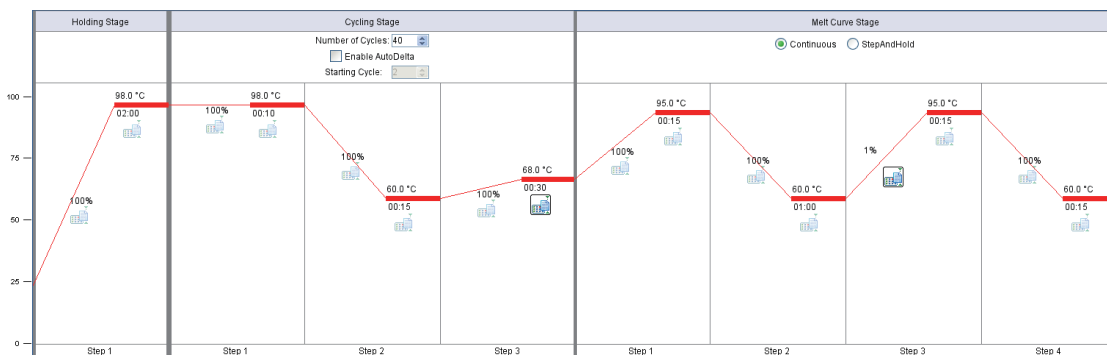
60°C 15秒

68°C 1分/kb

(500 bp 以下は 30 秒)

Dissociation Stage

< 7500 Fast Real-Time PCR System >



Stage 1：初期変性

Reps：1

98°C 2分

Stage 2：PCR 反応

Reps：40

98°C 10秒

60°C 15秒

68°C 1分/kb

(500 bp 以下は 30 秒)

Melt Curve Stage

※ 使用上の注意

本製品に使用している MightyAmp DNA Polymerase は強力なホットスタート抗体を使用しているため、必ず 98°C 2 分の初期変性を行い、抗体を熱変性させてください。

3. 反応終了後、増幅曲線と融解曲線を確認し、定量を行う場合は検量線を作成する。

解析方法は、各装置の取扱説明書をご参照ください。

## 【LightCycler を用いる場合の操作方法】

※ 装置の取扱説明書に従って操作してください。

1. 下記に示す PCR 反応液を調製する。

< 1 反応あたり >

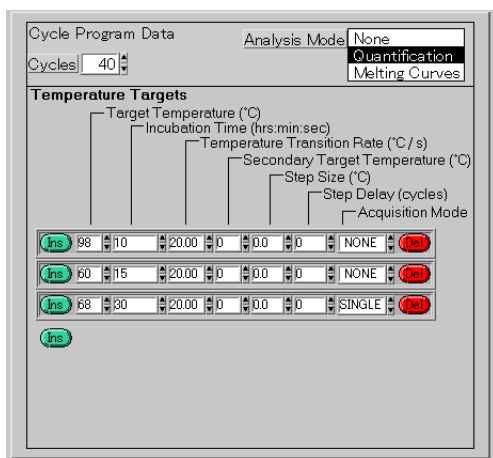
試薬	使用量	最終濃度
MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 ×)	10 $\mu$ l	1 ×
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M*1
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M*1
template (< 100 ng) *2	2 $\mu$ l	
滅菌水	7.2 $\mu$ l	
Total	20 $\mu$ l	

\* 1 : 最終プライマー濃度は 0.2  $\mu$ M で良い結果が得られる場合が多いが、反応性に問題があるときは 0.1 ~ 1.0  $\mu$ M の範囲で最適な濃度を検討すると良い。

\* 2 : template 溶液中に存在するターゲットのコピー数により異なる。段階希釈して適当な添加量を検討する。DNA template 100 ng 以下を用いることが望ましい。また、RT-PCR で cDNA (RT 反応液) を template として添加する場合は、PCR 反応液容量の 10% 以下になるようにする。

2. PCR キャピラリーを遠心機で軽く遠心後、LightCycler にセットし、反応を開始する。

PCR 反応は、下記の標準プロトコルで行うことをお勧めします。まずはこのプロトコルを試し、必要に応じて PCR 条件を至適化してください。PCR 条件を至適化する場合は、9 ページの「PCR 条件について」をご参照ください。



### 標準プロトコル

- Stage 1 : 初期変性  
98°C 2分 20°C / 秒  
1 サイクル
- Stage 2 : PCR 反応  
98°C 10秒 20°C / 秒  
60°C 15秒 20°C / 秒  
68°C 1分/kb 20°C / 秒  
(500 bp 以下は 30 秒)  
40 サイクル
- Stage 3 : 融解曲線分析  
95°C 0秒 20°C / 秒  
65°C 15秒 20°C / 秒  
95°C 0秒 0.1°C / 秒

### Stage 2 : PCR 反応

#### ※ 使用上の注意

本製品に使用している MightyAmp DNA Polymerase は強力なホットスタート抗体を使用しているため、必ず 98°C 2分の初期変性を行い、抗体を熱変性させてください。

3. 反応終了後、増幅曲線と融解曲線を確認し、定量を行う場合は検量線を作成する。

解析方法は、リアルタイム PCR 装置の取扱説明書をご参照ください。



## PCR 条件について

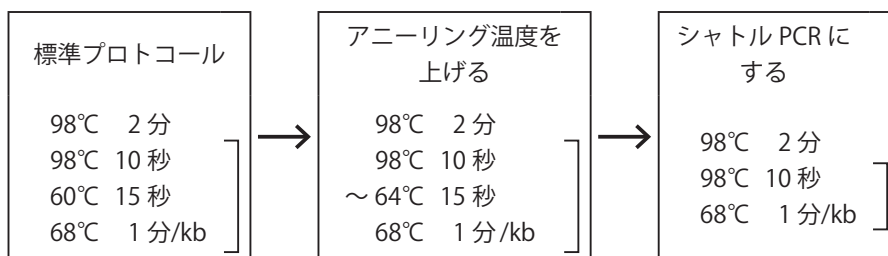
### 【初期変性】

本製品に使用している MightyAmp DNA Polymerase は、強力なホットスタート抗体を使用しているため、必ず 98℃ 2 分の初期変性を行い、抗体を熱変性させてください。

### 【PCR 条件の検討】

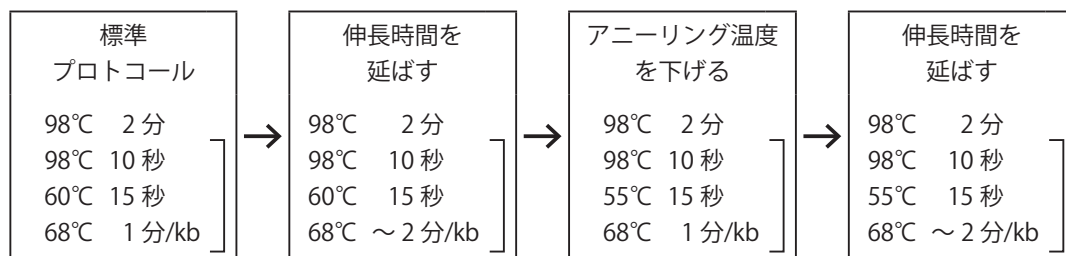
○ 反応特異性を上げるには—

アニーリング温度を上げると反応特異性が改善することがあります。増幅効率とのバランスを確認しながら、検討を行ってください。



○ 増幅効率を上げるには—

伸長時間を延ばすか、アニーリング温度を下げることにより、増幅効率が改善することがあります。以下の手順で検討を行ってください。



## VII. Appendix

### (1) RT-PCR を行う場合

RT 反応には PrimeScript™ RT キットシリーズ (製品コード RR037A/B、RR036A/B、RR047A/B) の使用をお勧めします。本製品と組み合わせて使用することにより、信頼性の高い結果を得ることができます。以下には PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR037A) を用いた例を示します。

1. 下記に示す逆転写反応液を氷上で調製する。  
RNA サンプル以外のコンポーネントを必要な本数 +  $\alpha$  分調製し、マイクロチューブに分注後、RNA サンプルを添加すると良い。

< 1 反応あたり >

試薬	使用量	最終濃度
5 × PrimeScript Buffer (for Real Time)	2 $\mu$ l	1 ×
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 $\mu$ l	
Oligo dT Primer (50 $\mu$ M) *1	0.5 $\mu$ l	25 pmol
Random 6 mers (100 $\mu$ M) *1	0.5 $\mu$ l	50 pmol
total RNA		
RNase Free dH <sub>2</sub> O		
Total	10 $\mu$ l*2	

\* 1 : Oligo dT Primer と Random 6 mers の両方を用いると mRNA 全長にわたり効率よく cDNA が合成されます。なお、各プライマーを単独で用いる場合および Gene Specific Primer の場合の使用量は以下の通りです。

プライマー	使用量	添加量
Oligo dT Primer (50 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	25 pmol
Random 6 mers (100 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	50 pmol
Gene Specific Primer (2 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	1 pmol

\* 2 : 逆転写反応は、必要に応じてスケールアップしてください。10  $\mu$ l の反応液で逆転写出来るのは、およそ 500 ng までの total RNA です。

2. 逆転写反応を行う。

37°C 15 分\*3 (逆転写反応)  
85°C 5 秒 (逆転写酵素を熱失活させる)  
4°C

\* 3 : Gene Specific Primer を用いる場合は逆転写反応を 42°C、15 分で行ってください。PCR で非特異的な増幅が生じた場合には、逆転写温度を 50°C に変更すると改善される場合があります。

- 
3. PCR反応液を下記の通り調製する。(Thermal Cycler Dice Real Time System使用の場合)  
以下のコンポーネントを必要本数+ $\alpha$ 分調製し、22.5～24  $\mu$ l ずつ分注する。

< 1 反応あたり >

試薬	使用量	最終濃度
MightyAmp for Real Time (TB Green Plus) (2 ×)	12.5 $\mu$ l	1 ×
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
滅菌水	x $\mu$ l	
Total	22.5～24 $\mu$ l	

4. 3. で調製した反応液を分注したチューブに、逆転写反応液を1～2.5  $\mu$ l 添加する。  
PCR 反応への逆転写反応液の持込み量は、2.5  $\mu$ l 以下にする。

## VIII. 使用例

### 実験例 1：クルードなサンプルからのリアルタイム PCR

#### 【方法】

牛肉 13.4 mg あるいはマウス腓臓 10.5 mg に 50 mM NaOH を 180  $\mu$ l 添加し、95 $^{\circ}$ C、10 分インキュベーションした後、1 M Tris-HCl (pH8.0) を 20  $\mu$ l 加えて中和し、アルカリ熱抽出液を得た。各抽出液の原液、4 倍希釈液、16 倍希釈液のそれぞれ 1.5  $\mu$ l を鋳型に、cox1 遺伝子 (289 bp) および Hbb-b1 遺伝子 (165 bp) をターゲットとして、本製品と TB Green *Premix Ex Taq*<sup>TM</sup> (Perfect Real Time) (製品コード RR041A：終売)\* を用いてリアルタイム PCR を行い、反応性を比較した。

\*：TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR420A/B) の旧バージョンです。

#### 【結果】

本製品はどちらのクルードサンプルに対しても、鋳型量に応じた理論通りの定量的な増幅を示しました。一方、従来製品ではサンプル中の阻害物質により著しく反応阻害が起きました (図 1)。PCR 阻害物質を多く含むサンプルに対してリアルタイム PCR を行う場合、本製品をお試しいただくことで高感度なリアルタイム PCR 検出が期待できます。

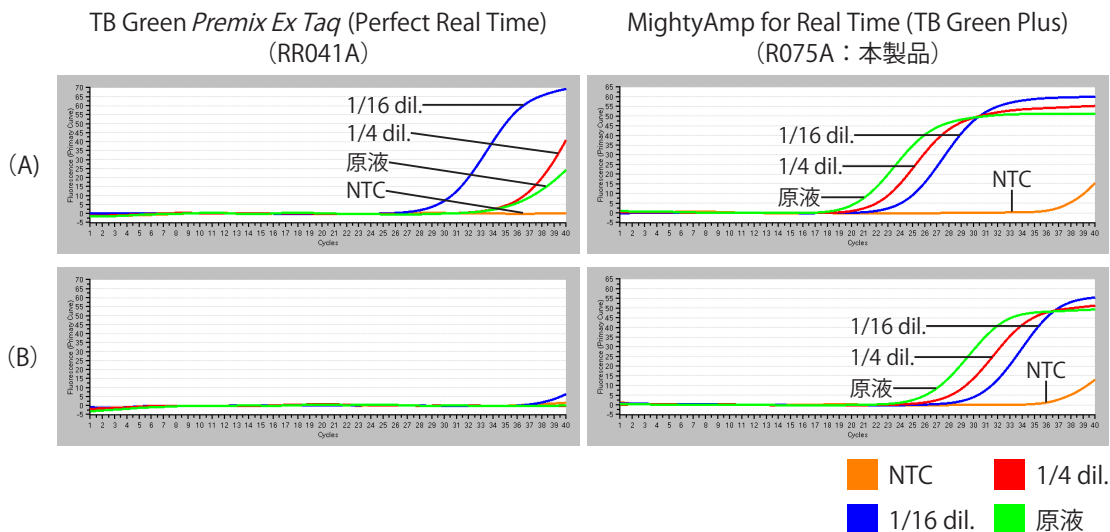


図 1. クルードサンプルでのリアルタイム PCR

- 試薬 : TB Green *Premix Ex Taq* (Perfect Real Time)  
: MightyAmp for Real Time (TB Green Plus)
- 装置 : Thermal Cycler Dice Real Time System
- 反応条件 : RR041A  
95 $^{\circ}$ C 30 秒  $\rightarrow$  95 $^{\circ}$ C 5 秒 / 60 $^{\circ}$ C 30 秒 ; 40 サイクル  
: R075A  
98 $^{\circ}$ C 2 分  $\rightarrow$  98 $^{\circ}$ C 10 秒 / 60 $^{\circ}$ C 15 秒 / 68 $^{\circ}$ C 30 秒 ; 40 サイクル
- サンプル : (A) 牛肉アルカリ熱抽出液  
: (B) マウス腓臓 アルカリ熱抽出液
- ターゲット : (A) cox1  
: (B) Hbb-b1

## 実験例 2：GC 含量が 70%を超えるターゲットのリアルタイム PCR

### 【方法】

cDNAあるいはヒトゲノムDNAを鋳型に、本製品とTB Green *Premix Ex Taq* GC (Perfect Real Time) (製品コード RR071A) ならびにTB Green *Premix Ex Taq* (Perfect Real Time) (製品コード RR041A：終売)\*を用いてGC含量が70%を超える4種類のターゲットをリアルタイムPCRにより検出し、その反応性を比較した。

\*:TB Green *Premix Ex Taq* (Tli RNaseH Plus)(製品コード RR420A/B)の旧バージョンです。

### 【結果】

TB Green *Premix Ex Taq* (Perfect Real Time) やTB Green *Premix Ex Taq* GC (Perfect Real Time) で増幅できないような70%を超えるGCリッチターゲットに対しても、本製品は定量的な増幅を示しました(図2)。

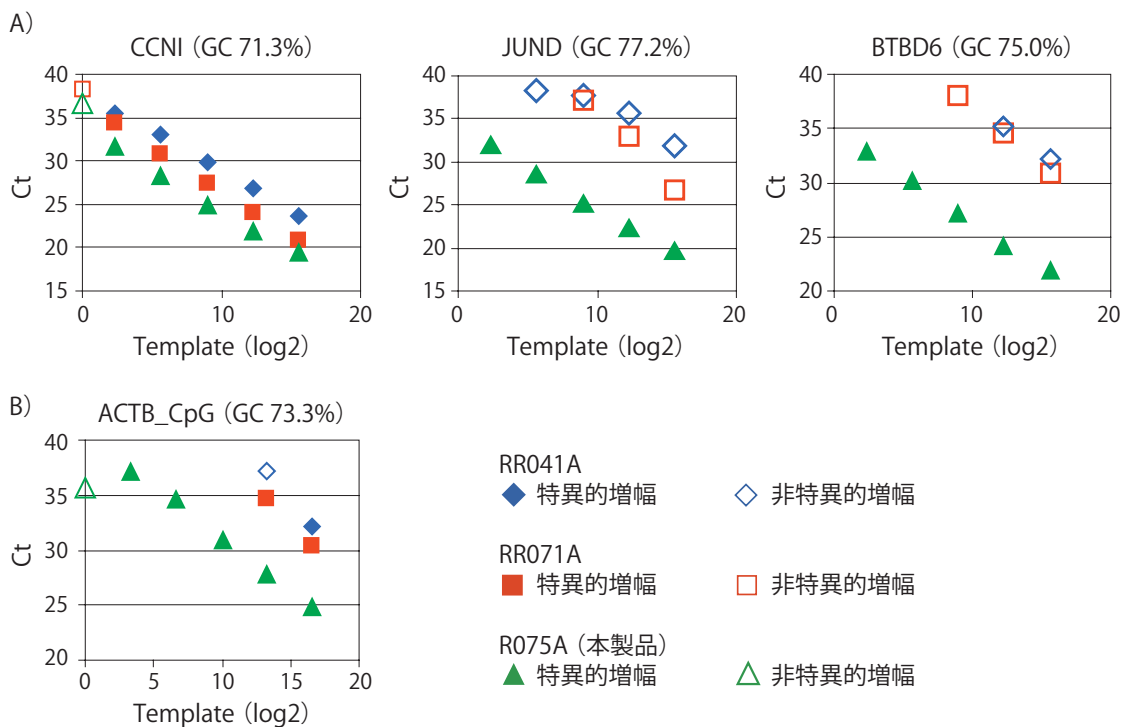


図2. GC 含量 70%を超えるターゲットに対するリアルタイム PCR

- 試薬 : TB Green *Premix Ex Taq* (Perfect Real Time)  
 : TB Green *Premix Ex Taq* GC (Perfect Real Time)  
 : MightyAmp for Real Time (TB Green Plus)
- 装置 : Thermal Cycler Dice Real Time System
- 反応条件 : RR041A  
 95°C 30 秒→95°C 5 秒/ 60°C 30 秒; 40 サイクル  
 : RR071A  
 95°C 30 秒→95°C 5 秒/ 60°C 30 秒; 40 サイクル  
 : R075A  
 98°C 2 分→98°C 10 秒/ 60°C 15 秒/ 68°C 30 秒; 40 サイクル
- 鋳型 : (A) cDNA (Human testis total RNA 5 pg ~ 50 ng 相当量)  
 : (B) Human genomic DNA 10 pg ~ 100 ng
- ターゲット : (A) CCNI (増幅サイズ 115 bp)、JUND (167 bp)、BTBD6 (168 bp)  
 : (B) ACTB\_CpG (131 bp)

### 実験例 3：エンドポイント PCR 用プライマーを用いたリアルタイム PCR

#### 【方法】

ヒトゲノム DNA を鋳型として、増幅鎖長がそれぞれ 550 bp、985 bp、1,954 bp のターゲット領域に対してエンドポイント PCR 用に設計したプライマーと本製品を用いたリアルタイム PCR を行い、その反応性を評価した。

#### 【結果】

従来製品ではリアルタイム PCR 増幅が難しい 300 bp を超えるターゲットに対しても、本製品は通常のエンドポイント PCR の反応条件（伸長時間を 1 分 / kb に設定）で定量的な増幅を示しました（図 3）。

電気泳動解析用に設計したプライマーとその PCR 条件を利用して、やや大きめのターゲット（増幅サイズ：～ 2 kb）をリアルタイム PCR 検出したい場合、本製品をお試しいただくことで良好な結果が期待できます。

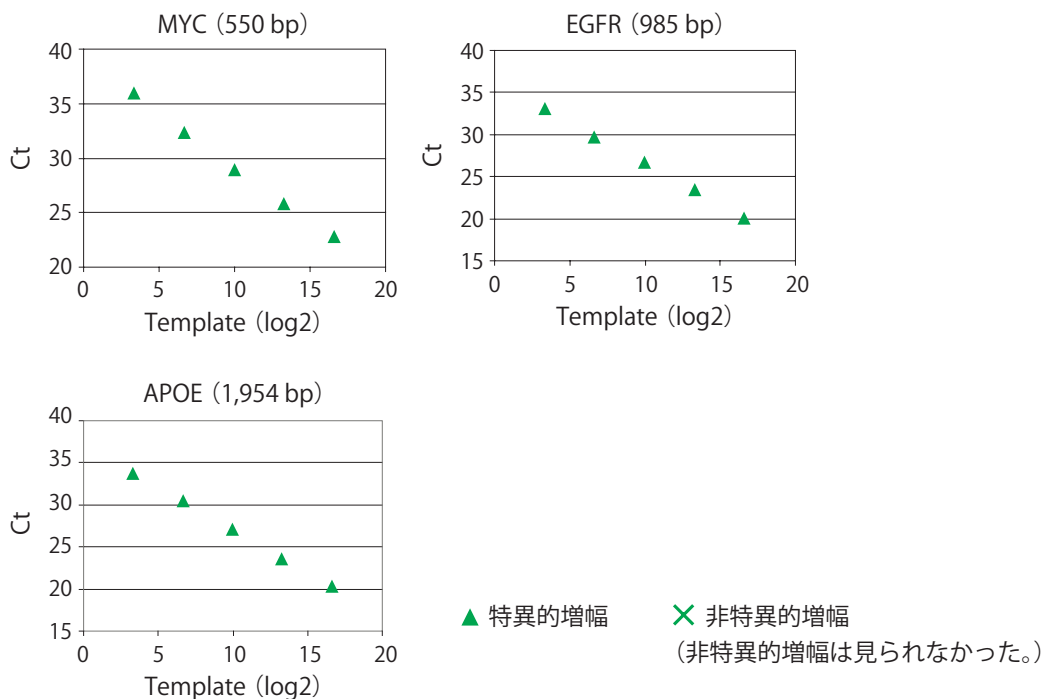


図 3. エンドポイント PCR 用プライマーを用いたリアルタイム PCR（増幅サイズ：500 bp～2 kb）

試薬 : MightyAmp for Real Time (TB Green Plus)  
装置 : Thermal Cycler Dice Real Time System  
反応条件 : (MYC/550 bp)  
98°C 2 分 → 98°C 10 秒 / 60°C 15 秒 / 68°C 30 秒 ; 40 サイクル  
: (EGFR/985 bp)  
98°C 2 分 → 98°C 10 秒 / 60°C 15 秒 / 68°C 60 秒 ; 40 サイクル  
: (APOE/1,954 bp)  
98°C 2 分 → 98°C 10 秒 / 60°C 15 秒 / 68°C 120 秒 ; 40 サイクル  
鋳型 : Human genomic DNA 10 pg ~ 100 ng

## IX. 参考文献

- 1) 吉崎美和、向井博之 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 (2005) p120-126
- 2) 吉崎美和、向井博之 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 (2008) p39-43

## X. 関連製品

TB Green® *Premix Ex Taq*™ (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR420S/A/B)  
TB Green® Fast qPCR Mix (製品コード RR430S/A/B)  
TB Green® *Premix Ex Taq*™ II (Tli RNaseH Plus) (製品コード RR820S/A/B)  
TB Green® *Premix DimerEraser*™ (Perfect Real Time) (製品コード RR091A/B)  
TB Green® *Premix Ex Taq*™ GC (Perfect Real Time) (製品コード RR071A/B)  
PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR037A/B)  
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) (製品コード RR036A/B)  
PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) (製品コード RR047A/B)  
One Step TB Green® PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR096A/B)  
One Step TB Green® PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (製品コード RR066A/B)  
One Step TB Green® PrimeScript™ RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) (製品コード RR086A/B)  
Probe qPCR Mix (製品コード RR391A/B)

CronoSTAR™ 96 Real-Time PCR System (製品コード 640231/640232)  
CronoSTAR™ Portable Real-Time PCR System (製品コード 640245/640247/640249)

## XI. 注意

- ・本製品は研究用試薬です。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。
- ・TB Green、Thermal Cycler Dice はタカラバイオ株式会社の登録商標です。MightyAmp、PrimeScript、*Premix Ex Taq*、*DimerEraser*、CronoSTARはタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書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。

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  
ウェブサイト <https://www.takara-bio.co.jp>

**タカラバイオ株式会社**