

# リアルタイムPCR (qPCR) 試薬選びの入門編！ 簡単・最新qPCR試薬選択ガイド

(2024年6月版)

リアルタイムPCR試薬には、検出方法や操作ステップの違いにより、多くの製品があります。その中でどの製品を使ったらいいのか迷われる方のため、本ガイドでは実験目的を基に最適な製品をご紹介します。また、装置などの関連製品もご紹介しています。リアルタイムPCR実験にぜひ本ガイドをご活用ください！



## その1

### まずはインターカレーター法かプローブ法か、検出方法を選びましょう！



お客様A

とにかくコスト重視で安く行いたい。  
手軽に、簡単に行いたい。



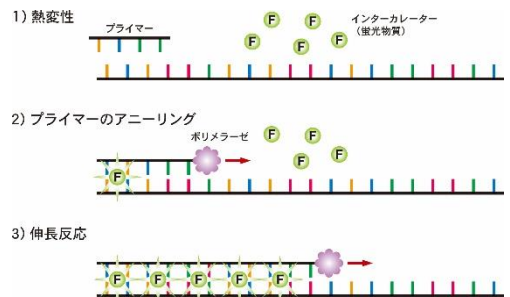
タカラバイオ担当者

それなら、TB Green®を使った  
インターカレーター法がおすすめです！



#### インターカレーター法とは

二本鎖DNAに結合することで蛍光を発する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TB Greenが結合すると、蛍光を発します。基本的に、PCRプライマーさえ設計すれば実験が行え、コストも比較的安価です。デメリットとして、非特異的増幅産物でも蛍光を発し検出してしまう点ですが、融解曲線分析の実施やプライマー設計技術の向上で、かなり精度は上がっています。



お客様B

特異性が一番大事。SNPタイピングや  
微生物検出を行いたい。



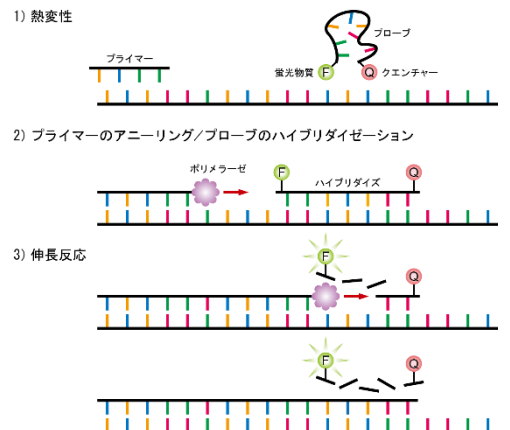
タカラバイオ担当者

それなら、プローブ法がおすすめです！



#### プローブ法 (5'-ヌクレアーゼ法) とは

PCRプライマーの他に、5'側をFAMなど蛍光物質で、3'側をTAMRAなどクエンチャー物質で修飾したターゲット遺伝子特異的なプローブを反応系に加える方法です。まず、プローブがターゲット遺伝子にハイブリダイズしますが、このときは蛍光を発しません。PCRでの伸長反応時に、Taq DNAポリメラーゼの持つ5'→3' exonuclease活性によりプローブが分解され、クエンチャーによる抑制が解除されて初めて蛍光を発します。つまり、インターカレーター法のように、非特異的増幅由来の蛍光検出はほとんどなく、特異性の極めて高いリアルタイムPCRを行うことができます。デメリットは、特異的プローブの設計・合成に手間やコストがかかる点です。



# リアルタイムPCR試薬選択ガイド

## その2

次に、操作ステップが **2 Step**か **1 Step**かを選びましょう！



お客様C

少量RNAサンプルから効率的に行いたい。解析対象の遺伝子数が多い。自分で系の調整を行いたい。



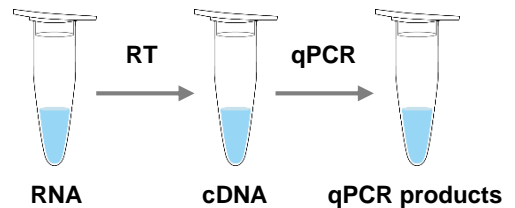
タカラバイオ担当者

それなら、**2 Step RT-PCR法**がおすすめです！



### 2 Step RT-PCR法とは

ランダムプライマー、オリゴdTプライマーまたは遺伝子特異的プライマーを用いて逆転写反応を行い、その反応液の一部(cDNA)を鋳型としてリアルタイムPCR反応液に添加してPCRを行う方法です。逆転写反応、およびリアルタイムPCRにおいて最適なプライマーの選択や、反応温度・時間のチューンナップなど、サンプルに応じて実験系を最適化できるため、より高感度で正確なリアルタイムPCRが可能です。また、検出対象遺伝子が多い場合でも、逆転写反応でcDNAを調製し、それを異なる遺伝子特異的プライマーでリアルタイムPCRすることで対応できます。デメリットとしては、2 Stepなので反応時間や手間が1 Stepよりもかかること、サンプルの移し替えが発生するのでコンタミネーションのリスクが1 Stepよりも高まることです。



RNAからのcDNA合成とcDNAからのリアルタイムPCRを、別のステップ(チューブ)で行います。



お客様D

操作は簡単で速く行いたい。解析対象の遺伝子数はそれほど多くない。ハイスループット解析にも応用したい。



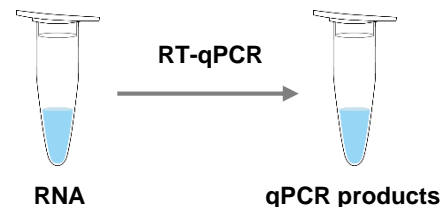
タカラバイオ担当者

それなら、**1 Step RT-PCR法**がおすすめです！



### 1 Step RT-PCR法とは

逆転写反応(RT)とPCRを同じチューブ内で連続して行う方法です。操作が簡単で、反応時間を短縮でき、ハイスループットにも対応可能です。また、逆転写反応には、遺伝子特異的なプライマー(PCRの下流プライマー)を用いるため特定遺伝子を高感度に検出でき、サンプル間のコンタミネーションのリスクが低いので、特定微生物の検出など決まったターゲットの検出に適しています。デメリットとしては、実験者ご自身での反応系の調整が難しいため、うまくいかないときの解決法に限られることです。



RNAサンプルから一気に逆転写 & PCR！

それではいよいよ、おすすめ試薬のご紹介です！

# リアルタイムPCR試薬選択ガイド

## ◆ インターカレーター法でおススメの 2 Step & 1 Step 試薬

### 【2 Step RT-PCR】

#### ・逆転写(RT)用試薬

**操作簡便! 逆転写用プライマー添加済みのプレミックスタイプ**

製品名	容量	製品コード	価格
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)	200回 ※1	RR036A	¥47,000
	800回 ※1	RR036B	¥159,000

- ✓ 完全プレミックスタイプで操作が簡便
- ✓ 15分の反応で効率良くリアルタイムPCR用の鋳型cDNAを合成。2ステップのリアルタイムRT-PCRに最適
- ✓ 逆転写用のプライマーとしてRandom 6 mersとOligo dT Primerを混合したRT Primer Mixを使用しており、RNAの全領域を均一に合成

#### ・qPCR(リアルタイムPCR)用試薬

**究極の特異性、高速反応、コンタミ防止など優れた機能が満載のインターカレーター法用試薬**

製品名	容量	製品コード	価格
TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR	400回 ※2	RR830A	¥49,000
	800回 ※2	RR830B	¥93,000

- ✓ 高速反応に適した変異型 Taq DNAポリメラーゼとプライマーダイマー抑制因子を組み合わせ最適化した組成により、卓越した高速反応と究極の特異性を持ちながら高い蛍光強度による幅広いダイナミックレンジを実現
- ✓ ユニバーサルなリファレンスDyeと可視化色素があらかじめ試薬中に含まれており、従来製品と比較して操作性が大幅に向上

### 【1 Step RT-PCR】

**1 Step RT-qPCR用の第一推奨試薬(非特異的増幅を効果的に抑制)**

製品名	容量	製品コード	価格
One Step TB Green® PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	100回 ※3	RR096A	¥54,000
	500回 ※3	RR096B	¥204,000

- ✓ 新規逆転写酵素 PrimeScript™ PLUS RTaseを使用
- ✓ アクセサリータンパク質の添加により非特異的増幅を効果的に抑制
- ✓ バッファーはTB Green®をあらかじめ含む2×濃度のプレミックスであり、酵素類もプレミックス化しているため、反応液の調製が簡単

## ◆ プローブ法でおススメの 2 Step & 1 Step 試薬

【2 Step RT-PCR】 ※逆転写用試薬は、インターカレーター法と同じ上記製品(RR036A/B)をお勧めいたします。

**遺伝子発現解析や複数ターゲットの同時検出(multiplex)に最適なプローブ検出用試薬**

製品名	容量	製品コード	価格
Probe qPCR Mix MultiPlus	400回 ※2	RR393A	¥39,000
	800回 ※2	RR393B	¥72,000

- ✓ 高速リアルタイムに最適化されているため、よりスピーディーな実験が可能
- ✓ 増幅効率が高く、複数ターゲットの同時検出反応(multiplex)にも対応し、高感度な検出と高い定量性を再現性高く実現

### 【1 Step RT-PCR】

**遺伝子発現解析からウイルス・細菌の迅速検出まで、操作性の高いプレミックス試薬**

製品名	容量	製品コード	価格
One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix	200回 ※2	RR600A	¥51,000
	1,000回 ※2	RR600B	¥192,000

- ✓ 耐熱性逆転写酵素 PrimeScript™ III RTaseとPCR酵素、バッファーをプレミックス化しており、あとはPrimer・Probeおよび検体を加えるだけの簡単なプロトコール
- ✓ 反応阻害物質を含む粗抽出RNAからも高感度にターゲットを検出、再現性の高い定量が可能

※1: 10 µl反応系 ※2: 25 µl反応系 ※3: 50 µl反応系

# リアルタイムPCR関連製品

## プライマー・プローブ設計合成サービス

独自のアルゴリズムで設計済み。注文もオンラインで簡単

タカラバイオでは、リアルタイムPCR用のプライマー設計・合成サービスPerfect Real Time サポートシステム (PRTSS) もご用意しており、3ページでご紹介したqPCR用試薬と組み合わせると、面倒な条件検討をしなくても失敗しない、確実な解析結果を得られる確率がグッと高まります。インターカレーター法・プローブ法とも対応しておりますので、ぜひお使いください。

### ◆ インターカレーター法対応プライマー設計・合成サービス

#### Perfect Real Timeサポートシステム for インターカレーター

サービス項目	特長	価格(税別)
Perfect Real Timeサポートシステム for インターカレーター	・ヒト、マウス、ラット、ウシ、イヌ、ニワトリ、イネ、シロイヌナズナに対応 ・ヒト、マウスは各約24,000遺伝子に対して設計済み ・ご注文後はプライマー情報を開示 ・2 OD保証、納期は約1週間	¥15,000 /1セット

### ◆ プローブ法対応蛍光標識プライマー・プローブセット設計・合成サービス

#### Perfect Real Timeサポートシステム for プローブ

サービス項目	特長	価格(税別)
Perfect Real Timeサポートシステム for プローブ	・ヒト、マウス、ラットに対応 ・ご注文後はプライマー・プローブ情報を開示 ・レポーターとクエンチャーはFAMとBHQ-1 ・1.5 OD保証、納期は約3~4週間	¥25,000 /1セット ※1

※1：1セットにはプローブ1本、プライマー2本の計3本が含まれます。

## 96ウェル リアルタイムPCR装置

実機を使ったデモ実施中！お気軽にお問合せください。

### ◆ Thermal Cycler Dice® Real Time System IV (製品コード TP1000/TP1010/TP1030)



#### 【Dice Real Timeシリーズ】

最新・最速・最上位機種  
(0.1 mlチューブ対応)

製品コード	FAM/HEX/ROX/Cy5 フィルター	制御用PC	MRQ※2	Q705 フィルター	価格(税別)
TP1000	○			オプション (製品コード TP1004)	¥4,300,000
TP1010	○	○			¥4,500,000
TP1030	○	○	○		¥4,665,000

※2 MRQ：相対定量解析ソフトウェア「Multiplate RQ」は、複数プレートのデータをまとめて相対定量解析するための「Thermal Cycler Dice Real Time System」シリーズ専用ソフトウェアです。

### ◆ CronoSTAR™ 96 Real-Time PCR System (4ch) (製品コード 640231)

#### CronoSTAR™ 96 制御用PC (製品コード WN822)



#### 【CronoSTARシリーズ】

高い操作性のスタンダードモデル  
(0.2 mlチューブ対応)

製品コード	搭載フィルター	価格(税別)
640231	FAM、VIC/HEX、ROX/Texas Red、Cy5	¥2,880,000
WN822	—	¥200,000 ※3

※3：本体と同時に購入いただいた場合の価格です。  
追加で制御用PCのみをご購入される場合は、動作確認を行うため、作業費用と送料が別途必要です。  
本体同時購入以外で制御用PCを購入される場合は、総販売元のワケンビーテック株式会社までお問合せください。

・本パンフレットで紹介した製品はすべて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。  
・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。  
・本パンフレッ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。  
・本パンフレット記載の価格は2024年6月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2024年6月作成G

## タカラバイオ株式会社

営業部(東京) TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

営業部(本社) TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

テクニカルサポートライン TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

Website <https://www.takara-bio.co.jp>

Facebook <https://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店