

SeV Primer/Probe Mix with Standard

製品番号：QS-0100-200

I. 製品説明

SeV Primer/Probe Mix は、センドライウイルス(SeV)を高感度で検出することができ、感染細胞における SeV の存在確認に最適です。また、本キットに付属の Standard および Standard Dilution Buffer を使用して、SeV ゲノムを定量することもできます。

本製品は 1 ステップアッセイまたは 2 ステップアッセイの両方に対応しています。テンプレートには細胞溶解液または抽出した total RNA を使用できます。

II. 製品の内容

Product Component	Quantity	Cat No.
SeV Primer/Probe Mix (x10)	400µl	Q-0120
SeV Standard (2.0E+06 copies/µl)	120µl	QD-0103
Standard Dilution Buffer (x200)	50µl	QB-0105

(Probe: 5'FAM-3'MGB-Eclipse 標識)

III. リアルタイム PCR

1. 希釈液 Standard Dilution Buffer の調製

RNase Free Water を用いて 200xStandard Dilution Buffer を 200 倍で希釈する。

2. 検量線用 SeV Standard の調製

希釈液 Standard Dilution Buffer を用いて、検量線用 SeV Standard (2×10^6 copies/µL) を 10 倍段階希釈で行い、原液を含め 6 系列を作製する。

(リアルタイム PCR には、1 反応当たり 2µL を使用)

- (1) 2×10^6 copies/µL
[SeV Standard 原液]
- (2) 2×10^5 copies/µL
[2µL SeV Standard+18µL Standard Dilution Buffer]
- (3) 2×10^4 copies/µL
[2µL (2)+18µL Standard Dilution Buffer]
- (4) 2×10^3 copies/µL
[2µL (3)+18µL Standard Dilution Buffer]
- (5) 2×10^2 copies/µL
[2µL (4)+18µL Standard Dilution Buffer]
- (6) 2×10^1 copies/µL
[2µL (5)+18µL Standard Dilution Buffer]

3. 反応液の調製

One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix の説明書に従い、リアルタイム PCR を行ってください。

1 反応分の調製例

One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix (2x)	10µL
SeV Primer/Probe Mix (x10)	2µL
RNase Free Water	6µL
鑄型	(2µL)
Total	20µL

4. リアルタイム PCR の条件

以下の条件は LightCycler® 480 システム II を用いた際の推奨条件です。異なるリアルタイム PCR 機器をご使用の場合は、お使いの機器に合わせた条件設定が必要な場合があります。

Step	Temperature	Duration	Cycle(s)
Reverse Transcription	52°C	5 min	1
	95°C	10 sec	
2 Step PCR	95°C	5 sec	55
	60°C	30 sec	

蛍光検出: FAM

IV. 実験例

Amplification Curves

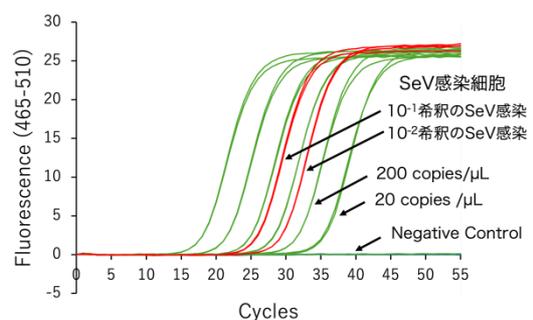


図1 SeV Primer/Probe Mix with Standard を用いた SeV のリアルタイム PCR の例

V. 保存

-20°C保存で 6 ヶ月以内に使用
(保存期間は手元に届いてからの期間です。)

VI. 使用上の注意

・本製品は研究用試薬です。臨床目的、体外診断目的に使用することはできません。

SeV Primer/Probe Mix with Standard

Cat. No. QS-0100-200

I. Product Description

The SeV Primer/Probe Mix enables highly sensitive detection of Sendai virus (SeV), making it ideal for confirming viral presence in infected cells. Additionally, SeV genome can be quantified using the Standard and Standard Dilution Buffer included in the kit.

The assay can be performed as either a one-step assay or two-step procedure. Cell lysate or extracted total RNA can be used as templates.

Preparation example for one reaction

One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix (2×)	10μL
SeV Primer/Probe Mix (×10)	2μL
RNase Free Water	6μL
Template	(2μL)
<hr/>	
Total	20μL

II. Product Contents

Product Component	Quantity	Cat No.
SeV Primer/Probe Mix (×10)	400μl	Q-0120
SeV Standard (2.0E+06 copies/μl)	120μl	QD-0103
Standard Dilution Buffer (×200)	50μl	QB-0105

(Probe: 5'FAM-3'MGB-Eclipse label)

III. Real-time PCR

1. Preparation of Standard Dilution Buffer

Prepare a 1×Standard Dilution Buffer by diluting the 200 × Standard Dilution Buffer 200-fold with RNase-Free Water.

2. Preparation of SeV Standard

Prepare 10-fold serial dilutions of SeV Standard using the SeV Standard stock (2×10⁶ copies/μL) and Standard Dilution Buffer as follows:

(Use 2μL of template for each real-time PCR reaction)

- (1) 2×10⁶ copies/μL
[SeV Standard stock]
- (2) 2×10⁵ copies/μL
[2μL SeV Standard stock+18μL Standard Dilution Buffer]
- (3) 2×10⁴ copies/μL
[2μL of dilution (2)+18μL Standard Dilution Buffer]
- (4) 2×10³ copies/μL
[2μL of dilution (3)+18μL Standard Dilution Buffer]
- (5) 2×10² copies/μL
[2μL of dilution (4)+18μL Standard Dilution Buffer]
- (6) 2×10¹ copies/μL
[2μL of dilution (5)+18μL Standard Dilution Buffer]

3. PCR Setup

Perform real-time PCR according to the instructions provided with the One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix.

4. qPCR Cycling Conditions

The following conditions are recommended for the LightCycler® 480 System II. When using different real-time PCR instruments, optimization of cycling conditions may be required.

Step	Temperature	Duration	Cycle(s)
Reverse Transcription	52°C	5 min	1
	95°C	10 sec	
2 Step PCR	95°C	5 sec	55
	60°C	30 sec	

Fluorescence detection: FAM

IV. Example of Results

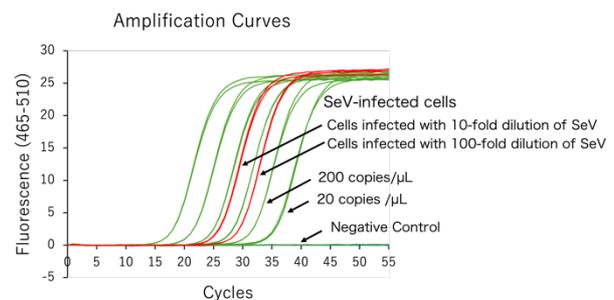


Figure 1: Example of SeV real-time PCR using SeV Primer/Probe Mix with Standard

V. Storage

All product components should be stored at -20°C and used within 6 months after delivery.

VI. Product use restriction

· This product is for research use only and should not be used for diagnostic or therapeutic purposes.