

Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix

Q712



Version 20.1

製品概要

本製品は、SYBR Green Iを用いたqPCR専用プレミックス試薬です。

本製品に使用している酵素 Taq Pro DNA Polymerase は、高特異性、高検出感度及び高増幅効率などの利点を有する抗体法を用いた新世代のホットスタートポリメラーゼです。

qPCRに最適化されたバッファーと特許取得済みのエンハンサーの組み合わせにより、優れた結果を得ることができます。

本製品には、独自の ROX Reference Dye が含まれており、装置ごとに ROX の濃度を調製する必要がなく、さまざまな qPCR 装置に対応しています。

本製品は、プライマーとテンプレートを加えるだけで使用できる 2×マスターミックスです。

| 製品名 | Q712-02 (500回用/20 µL 反応) | Q712-03 (2,500回用/20 µL 反応) |
|---|-----------------------------|-------------------------------|
| 2 × Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix* | 4 × 1.25 ml | 5 × Q712-02 |

dNTPs、Mg²⁺、Taq Pro HS DNA Polymerase、SYBR Green I および ROX Reference Dye などが含まれています。

保存方法

-30℃から-15℃で保管してください。またマスターミックスは解凍後、遮光して2~8℃で6ヶ月間安定して保存できます。輸送の際は0℃以下で行なってください。

使用期限

-30~-15℃で1年

アプリケーション

本試薬は、DNA サンプルの増幅・定量に使用します。

サンプルの種類としては、さまざまな生物種のゲノム DNA、cDNA、プラスミド DNA、λ DNA などで使用できます。

ご使用に際して

- 解凍後のマスターミックスに白い沈殿物が見られる場合は、しばらく室温に置き、転倒混和させて沈殿物を溶かしてから使用してください。
- 酵素活性の低下を防ぐため、凍結融解の繰り返しは避けてください。1回の使用量が少ない場合は、分注して使用することをお勧めします。
- 使用前にマスターミックスを転倒混和し、ボルテックス操作はしないでください。
※ マスターミックスは、混合後、短時間の遠心を行ってから使用してください。
※ マスターミックスを混ぜる操作で泡が発生した場合は、使用前に再度遠心を行なってください。
- 本製品には蛍光色素 SYBR Green I が含まれていますので、遮光して保管してください。
反応液を調製する際は、強い光を避けてください。
- 反応液の調製には、滅菌済みのピペットチップや反応チューブを使用してください。
可能であれば、フィルター付きのピペットチップの使用をお勧めします。

実験方法

1. 以下の混合液を qPCR チューブに入れる

| | |
|--|---------------------|
| 2 × Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix | 10.0 µL |
| Forward Primer (10 µM) | 0.4 µL ^a |
| Reverse Primer (10 µM) | 0.4 µL ^a |
| Template DNA/cDNA | x µL ^b |
| ddH ₂ O | y µL |
| 合計 | 20.0 µL |

a. 一般的に、プライマーの最終濃度は 0.2 µM で、良好な増幅結果が得られます。

反応効率が悪い場合には、プライマー濃度を 0.1~1.0 µM の範囲で調製してください。

b. テンプレートが cDNA の原液の場合、使用量は qPCR 反応液の総量の 1/10 を超えないようにしてください。

2. 以下の条件でqPCR反応を行なう。

| | | | | |
|---------|-------------------------------|----------|------|--------------------------|
| Stage 1 | Pre-denaturation ^a | Reps: 1 | 95°C | 30 sec |
| Stage 2 | Denaturation | Reps: 40 | 95°C | 3 - 10 sec ^b |
| | Annealing + Extension | | 60°C | 10 - 30 sec ^c |
| Stage 3 | Melting curve ^d | Reps: 1 | 95°C | 15 sec |
| | | | 60°C | 60 sec |
| | | | 95°C | 15 sec |

a. テンプレート構造が複雑な場合は、Pre-denaturationの時間を3分に延長することで改善することができます。

b. 標準プロトコルでは10秒、高速プロトコルでは3秒を選択できます。

c. 標準プロトコルでは30秒を選択。

高速プロトコル:

200 bp 以内のアンプリコンの場合、最短伸長時間は10秒に設定することができます。

200 bp を超えるアンプリコンの場合、推奨伸長時間は30秒です。

d. 融解曲線の取得プロトコルは、装置の種類によって異なります。

使用する装置のデフォルトの融解曲線プロトコルを使用できます。

トラブルシューティング

| 現象 | 原因 | 対策 |
|-------------|----------------------|--|
| 増幅曲線が通常と異なる | シグナルが弱い | 増幅がうまくいっていないことが考えられます。 サンプル濃度を上げて反応を行なってください。 |
| | 高濃度サンプルにより、ベースラインが上昇 | サンプルに高濃度の二本鎖 DNA が含まれる場合、ベースラインが上昇します。 その結果、機種によっては正確な Ct 値が算出されなくなるため、サンプル濃度を下げてください。 |
| | 反応液への気泡の混入 | 反応液に気泡を入れないようにしてください。 また、気泡が入ってしまった場合、遠心を行ない、気泡をなくすようにしてください。 |
| 増幅曲線が確認できない | サイクル数が少ない、サンプル濃度が低い | サイクル数を 40 サイクルより多く設定してください。 または、サンプル濃度を上げてください。 |
| | 蛍光が取得できていない | プログラムの設定を確認し、蛍光が取得されるようになっているか確認してください。 |
| | プライマー、サンプルの分解 | 長期間保管、または不適切な条件で保管しているプライマーの場合、分解している可能性があります。 PAGE等で分解しているか確認してください。 また、サンプルが分解している場合、再抽出または再調製を行なってください。 |
| Cq 値が遅れる | 増幅効率が低い | 反応条件を最適化してください。 または、プライマーの再調製または再設計を行なってください。 |
| | サンプル濃度が低い | サンプル濃度を上げてください。 |
| | サンプルの分解 | サンプルの再抽出または再調製を行なってください。 |
| | PCR産物が長い | 推奨の PCR産物長は、80 ~ 150 bp となります。 それより長い場合、プライマーの再設計をお勧めします。 |
| | 反応障害物質のコンタミ | 通常、サンプルに含まれることがあります。 サンプルを希釈するか、サンプルの精製をしてください。 |
| ネガコンの立ち上がり | 反応液のコンタミ | 使用する試薬を新調してください。 また、フィルター付きチップを使用する等してください。 |
| | プライマーダイマー | 融解曲線分析を行ない、複数のピークがみられる場合、プライマーダイマーの生成が疑われます。 反応条件の再検討、またはプライマーの再設計を行なってください。 |

| 現象 | 原因 | 対策 |
|------------------------|---------------------|--|
| スタンダードカーブの精度が低く、定量できない | サンプル濃度が高すぎる、または低すぎる | サンプルの Cq 値がスタンダードカーブに入るよう、濃度を調製してください。 |
| | スタンダード DNA の劣化 | スタンダード用 DNA を再調製してください。 |
| 融解曲線分析で複数のピークが見られる | プライマーダイマー | 反応条件の再検討、またはプライマーの再設計を行なってください。 |
| | プライマー濃度が高すぎる | プライマー濃度の調製を行なってください。 |
| | ゲノム DNA のコンタミ | サンプルの再調製を行なってください。 |
| 再現性が低い | サンプル量のばらつき | 校正を行なったピペットを使用し、調製を行なってください。 |
| | qPCR 装置の温度不具合 | 装置の校正を行なってください。 |
| | サンプル濃度が低い | サンプル濃度が低い場合、ばらつきが大きくなります。濃度を上げて行なってください。 |



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazymebiotech.com


Tel: +86 25-83772625

Email: global@vazyme.com

Add: Red Maple Hi-tech Industry Park, Nanjing, PRC

 **日本ジェネティクス株式会社**

 <https://www.n-genetics.com>

 info@genetics-n.co.jp

〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階

 03(3813)0961  03(3813)0962

本製品はライフサイエンス分野における研究での使用を目的としています。仕様は2021年11月現在のものです。製品は改良のため予告なく変更する場合があります。

M0164