

Technical Data

# FastGene™ リアルタイム用圧着シールの 384ウェルプレートへの適合確認試験

評価製品

FastGene™ リアルタイムPCR用圧着シール  
(FastGene™, Cat.No. FG-95PC)



## 概要

PCRプレート用シールは広く使用されているが、プレートとの相性が悪い場合や、シール自体の性能が悪いと、PCR中にサンプル蒸発の影響で、正確な実験結果が得られない場合がある（本資料末尾の補足資料を参照）。

本テクニカルノートでは、FastGene™ リアルタイムPCR用圧着シール（以下、FG-95PC）について、蒸発の影響を受けやすい以下の低容量マルチウェルプレート（384ウェル）で検証した。

①4titude FrameStar® (4ti-0384/c)

②FastGene™ (FG-0384P)

その結果、FG-95PCは検証した2種類のプレートで顕著な蒸発やプレート周辺部でのPCR増幅不良がみられず、シーリング材として機能した。



例：PCR後に蒸発が見られた一例

## 実験概要

### 1. 蒸発試験

- 蒸発量の確認のため、PCR前後の重量を測定した
- 顕著な蒸発の有無を確認するため、PCR後のウェルを目視で確認した
- 3プレート分の検証を行い、全てのプレートで上記2点について同様に確認した



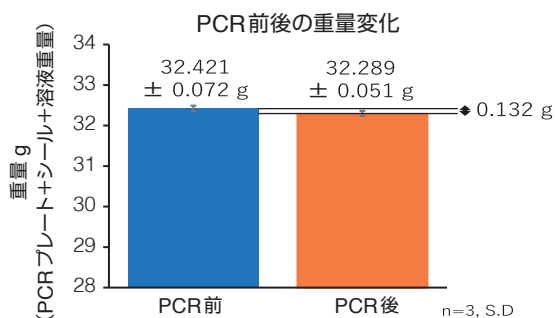
### 2. PCR試験

- プレートの周辺部にアプライしたPCR溶液で、PCR後に蒸発がないか目視で確認した
- プレートの周辺部のウェルで、PCR産物が得られるか、電気泳動にて確認した

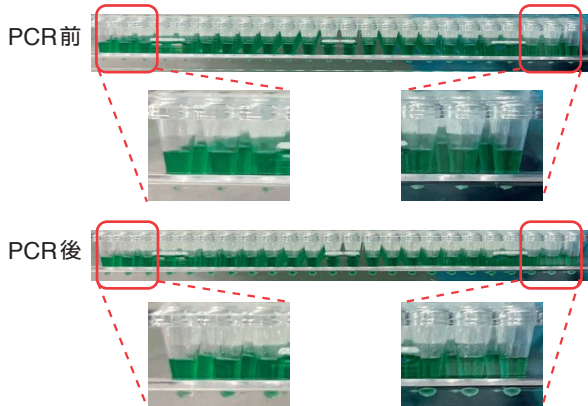
## 実験結果

### ① 4titude FrameStar® プレートでの結果

#### 1. 蒸発試験

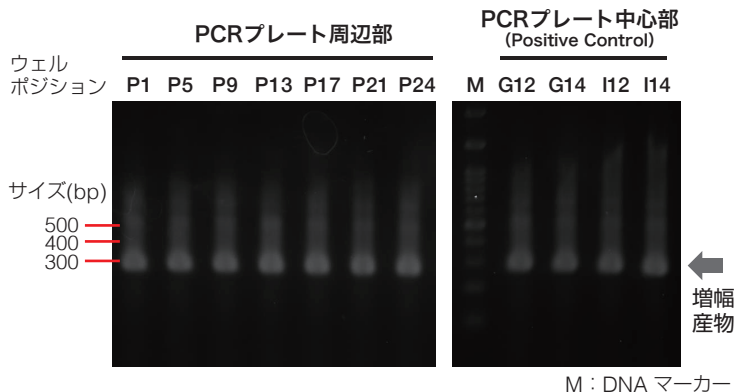


#### 目視での蒸発確認結果

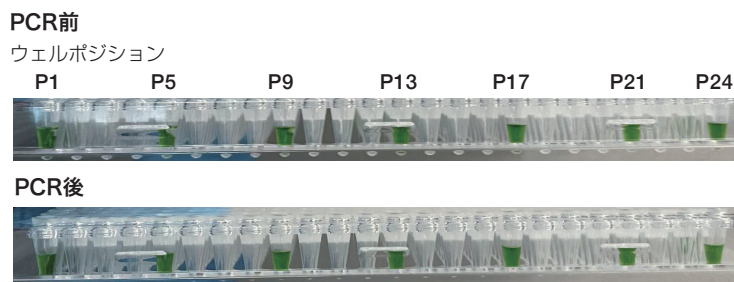


#### 2. PCR試験

##### 【電気泳動結果 (抜粋)】



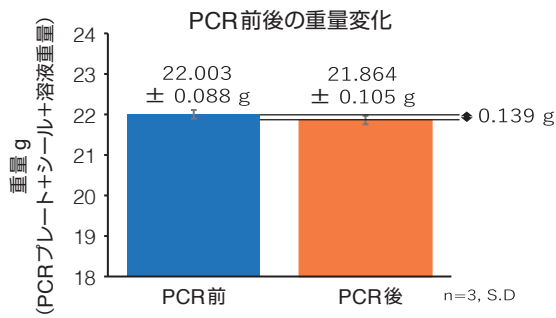
##### 【目視での確認結果 (抜粋)】



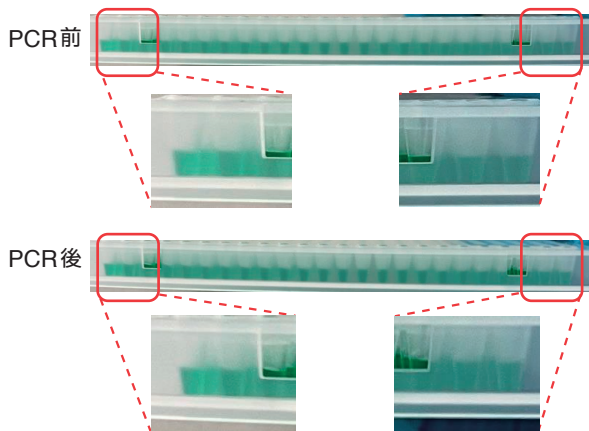
PCR後に顕著な蒸発はなく、プレート周辺部のウェルでPCR産物が得られた。

## ② FastGene™ 384 ウェルプレートでの結果

### 1. 蒸発試験

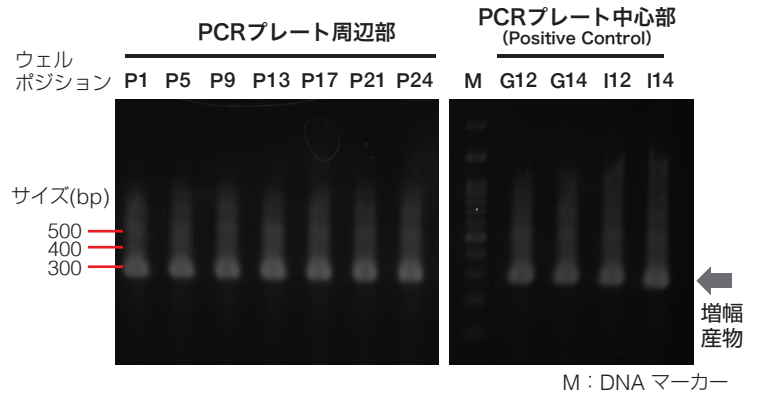


#### 目視での蒸発確認結果

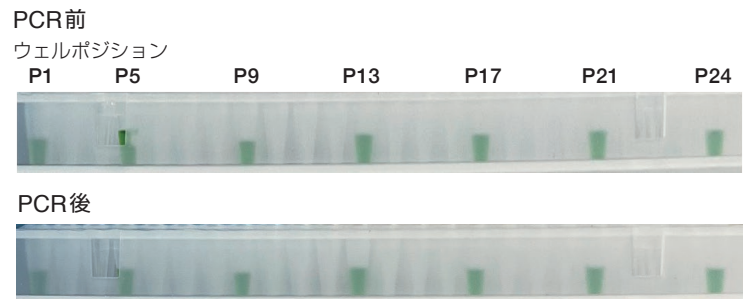


### 2. PCR試験

#### 【電気泳動結果 (抜粋)】



#### 【目視での確認結果 (抜粋)】



PCR後に顕著な蒸発はなく、プレート周辺部のウェルでPCR産物が得られた。

### 結論

FastGene™リアルタイム用圧着シールは、384ウェルプレート、4titude FrameStar® (4ti-0384/c) とFastGene™(FG-0384P) で機能することが確認できた。

## 検証方法

### 【使用製品】

◇ プレート用シール

1. FastGene™ リアルタイムPCR用圧着シール (FastGene™, Cat.No. FG-95PC)

◇ 384ウェルプレート

1. 4titude FrameStar® (4titude, Cat.No. 4ti-0384/c)

2. FastGene™ 384 プレート (FastGene™, Cat.No. FG-0384P)

◇ サーマルサイクラー

GeneExplorer サーマルサイクラー 384 well グラジエントブロック (Bioer Technology, Cat.No. GE-384G)

### 1. 蒸発試験

- 全ウェルに色水を 10  $\mu$ L/well でアプライし、PCR前後の重量を測定した。  
その後、PCR前後の重量差を計算し、「蒸発量」とした。
- PCR前に目視での液量の確認と写真撮影を行い、PCR後にも重量測定と目視による液量の確認、写真撮影を行った。  
また、顕著に蒸発するウェルがあった場合はその数をカウントした。
- 同じ条件のランを合計3回行い、各ランでの「蒸発量」から「平均蒸発量」を計算で求めた。
- PCR反応プログラムは、下図のプログラムを使用した。

#### ■ PCRプログラム

| STEP              | Temp. | Duration | Cycles |
|-------------------|-------|----------|--------|
| Enzyme activation | 95°C  | 3 min    | 1      |
| Denaturation      | 95°C  | 30 sec   |        |
| Annealing         | 60°C  | 30 sec   | 40     |
| Extension         | 72°C  | 30 sec   |        |
| Final extension   | 72°C  | 3 min    | 1      |

### 2. PCR試験

- プレートの周辺部のウェル (合計20か所) と、陽性対象として中央部4ウェルに 10  $\mu$ L/well のPCR反応液をアプライし、PCRを実施した。  
なお、使用したポジションは下図にて示した。
- PCR組成は下図の組成で調製を行い、プログラムは、下図のプログラムを使用した。
- PCR後のサンプルを全量 (10  $\mu$ L) 使用し、2.0% TAE アガロースゲルで泳動して、目的産物が増幅されているかを確認した。

#### ■ PCRプログラム

| STEP              | Temp. | Duration | Cycles |
|-------------------|-------|----------|--------|
| Enzyme activation | 95°C  | 3 min    | 1      |
| Denaturation      | 95°C  | 30 sec   |        |
| Annealing         | 60°C  | 30 sec   | 40     |
| Extension         | 72°C  | 30 sec   |        |
| Final extension   | 72°C  | 3 min    | 1      |

#### ■ PCR組成

| 試薬名  | 使用量               |
|--|-------------------|
| PCR grade water                            | 4.8 $\mu$ L       |
| 2×KAPA Taq Extra Ready Mix with Dye        | 10 $\mu$ L        |
| 10 $\mu$ M PCR primers (Forward / Reverse) | 1.6 $\mu$ L/ each |
| 1 ng/ $\mu$ L Human Genomic DNA            | 2 $\mu$ L         |
| Total volume                               | 20 $\mu$ L        |

#### ■ プライマー情報

- Primer  
Act-F1, Act-R1 (10  $\mu$ M) <beta-actin: 294 bp amplicon>  
Act-F1 : TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA  
Act-R1 : CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG

#### ■ テンプレートDNA

- Human Genomic DNA (Roche, Cat.No. 11 691 112 001)

PCR試験で使用したプレートポジション

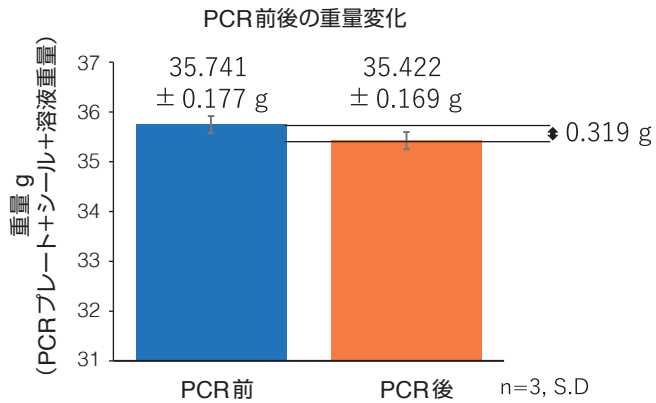
|   | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |  |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|---|
| A | ① |   |   |   | ② |   |   |   |   | ③  |    |    |    | ④  |    |    |    |    |    | ⑤  |    |    |    | ⑥  |  | ⑦ |
| B |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| C |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| D |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  | ⑧ |
| E |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| F |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| G |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| H |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| I |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  | ⑨ |
| J |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| K |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| L |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  | ⑩ |
| M |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| N |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| O |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |
| P | ⑪ |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |   |

※ PCR溶液を 10  $\mu$ L/well にて実施したデータを引用

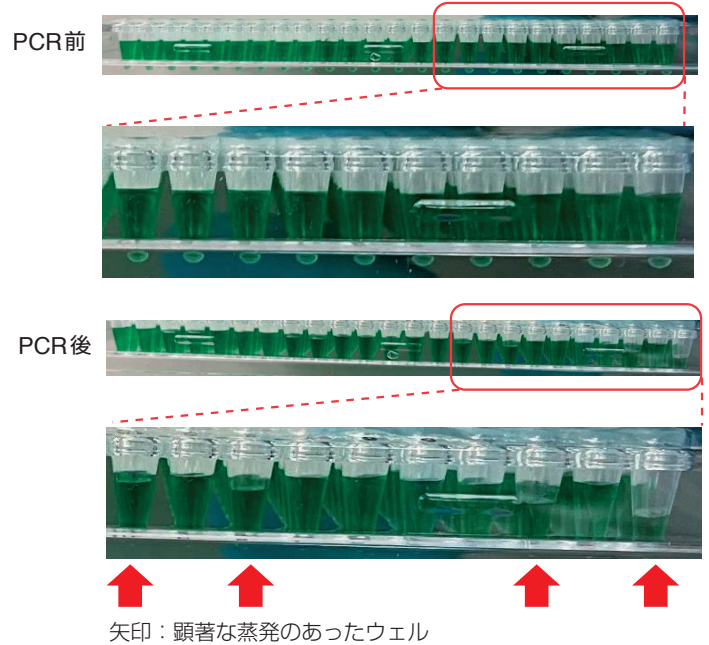
## 補足資料

## シーリングが機能していない時の蒸発試験の結果

## S1-1. 顕著な蒸発が見られた際の重量変化

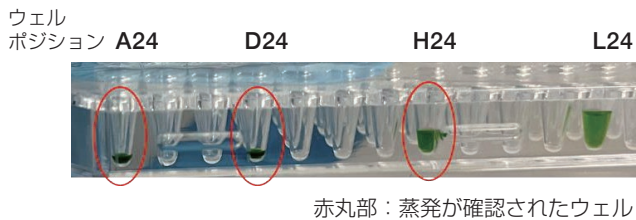

 ※ 色水を 20  $\mu$ L/well にて実施したデータを引用

## S1-2. 顕著な蒸発が見られた目視での確認結果



## シーリングが機能していない時のPCR試験の結果

## S2-1. PCR後のプレートの様子



## S2-2. 電気泳動結果

