

# GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS A6001, A6002

Quick  
PROTOCOL

注意：このプロトコールは、50 $\mu$ l スケール用です。反応スケールは調節可能です。鋳型とする DNA の液量は、反応スケールの 20% (10 $\mu$ l) までにしてください。

## 鋳型 DNA の調製

1. 定量スタンダードサンプルや、実験サンプル (鋳型 DNA) を nuclease-free water で希釈します。
2. 希釈した DNA 溶液 (No template control として水を) 10 $\mu$ l を各ウェルに加えます。

## qPCR Reaction Mix の調製

1. GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix と Nuclease-Free Water とプライマーを以下の順番で混合し、qPCR Reaction Mix を調製します。

構成成分	容量 (50 $\mu$ l 反応あたり)	終濃度
GoTaq <sup>®</sup> qPCR Master Mix, 2X	25 $\mu$ l	1X
Nuclease-Free Water	最終容量を 40 $\mu$ l に調整	—
PCR プライマー	_____ $\mu$ l	0.2 $\mu$ M または各 0.05–0.9 $\mu$ M

注1：機器によってはCXRの添加が必要です。100 $\times$ CXR reference dye は、回数分しか含まれておりません。2 $\times$ GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mixに1mlに対して100 $\times$ CXR リファレンスダイ 20 $\mu$ l を先に加えてから、1 サンプルあたり25.5 $\mu$ l 分注するなどの方法で行ってください。

注2：BioRadの機器では、補正用の色素が必要な場合があります。詳細は英文マニュアルを参考にしてください。

2. 40 $\mu$ l の qPCR Reaction mix を DNA の入った各ウェルに添加します。
3. プレートにシールをして、低速で 1 分間遠心します。
4. 機器のフィルター設定、プログラムの設定を行います (下表参照)。
5. プレートを機器にセットして、スタートします。
6. 反応終了後に解析を行います。

## プログラムの設定 (標準法と Fast 法)

	サイクル数	標準プログラム	Fast プログラム
ホットスタートの活性化	1	95 $^{\circ}$ C、2 分	95 $^{\circ}$ C、2 分
変性	40	95 $^{\circ}$ C、15 秒	95 $^{\circ}$ C、3 秒
アニーリング/伸長		60 $^{\circ}$ C、60 秒	60 $^{\circ}$ C、30 秒
解離	1	60–95 $^{\circ}$ C	60–95 $^{\circ}$ C

※プライマーや機種の違いによって温度等を変更する必要があるかもしれません。

Fast 法は、機種によって対応できない場合があります。

## 機器のフィルター設定

検出フィルター：	FAM, SYBR (BRYT)
リファレンス波長：	ROX (CXR)

## CXR リファレンスダイの添加が不要な機種

Applied Biosystems 7500 & 7500 Fast Real Time PCR Systems
Stratagene Mx3000P <sup>®</sup> and Mx3005P <sup>®</sup> Quantitative PCR Systems
Roche LightCycler <sup>®</sup> 480
Roche LightCycler 1.5 and 2.0 systems
BioRad Chromo4 <sup>™</sup> Real-Time Detector
BioRad CFX Real-Time PCR Detection Systems
BioRad iCycler iQ5 <sup>™</sup> and MyCycler <sup>™</sup>
Eppendorf Mastercycler <sup>®</sup> ep realplex4 and realplex4 S
Qiagen Rotor-Gene <sup>™</sup> Q, 3000, and 6000

## CXR リファレンスダイの添加が必要な機種 (終濃度 1X)

Applied Biosystems 7000 Sequence Detection System
Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System
Applied Biosystems 7700 Sequence Detection System
Applied Biosystems 7900HT Real-Time PCR System
Applied Biosystems StepOne <sup>®</sup> and StepOne <sup>®</sup> Plus Real-Time PCR Systems

