Technical Data

FastGene™ PCR CapのqPCR検証テスト

目的

FastGene™ PCRチューブのFlat CapについてqPCRでの性能を評価した

評価方法

qPCRにおいて、(ⅰ)増幅曲線(ⅱ)融解曲線(ⅲ)検量線による定量　の結果より、Capの透明度等の違いによるqPCRへの影響を評価した。

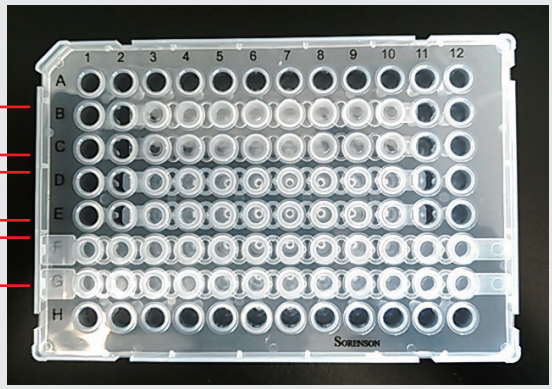
比較製品

① LifeTechnologies MicroAmp® Optical 8-Cap Strip (#4323032)（コントロール条件）
② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)
③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)

① LifeTechonologies MicroAmp® Optical 8-cap Strip (#4323032)

② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)

③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)



FastGene™ CapはOptical Capと比べ、透明感に違いがありキャップ面がわずかに白く見える。

qPCR条件

- qPCR装置：　LifeTechnologies　StepOnePlus™
- 96well Fast-PCRプレート：　Sorenson #38800
- qPCR試薬：　KAPA SYBR® FAST (KK4600)
- テンプレートDNA：　Roche Human Genomic DNA (#11 691 112 001)
  スタンダード DNA (3濃度, n=2)
  a.　5000 pg/μL
  b.　1000 pg/μL
  c.　200 pg/μL
- サンプル DNA:　500 pg/μL (n=8, or n=12)
- プライマー：　Act-F1, Act-R1 (10μM) <β-actin: 294bp amplicon>
  Act-F1　: 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3'
  Act-R1　: 5'-CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'
- 反応組成：

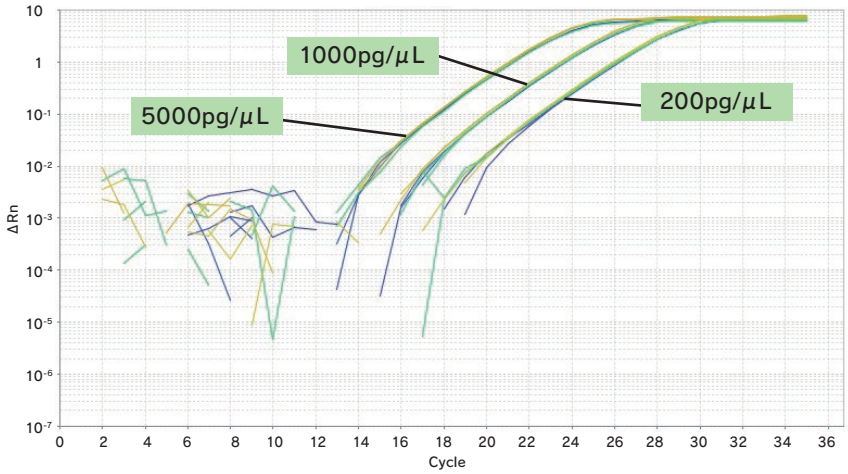
PCR grade water	7.6μL
KAPA SYBR® FAST	10.0μL
Primer F/R Mix (10μM each)	0.4μL
TemplateDNA	2.0μL
total	20.0μL / well

サイクルプログラム

Initial Denature：	95℃	20sec	
Denature:	95℃	10sec	
Anneal/Extension	60℃	45sec	(detection)
	＜35cycles＞		
Melting Curve：	95℃	15sec	
	60℃	1min	
	95℃	15sec	(+0.3℃ step detection)

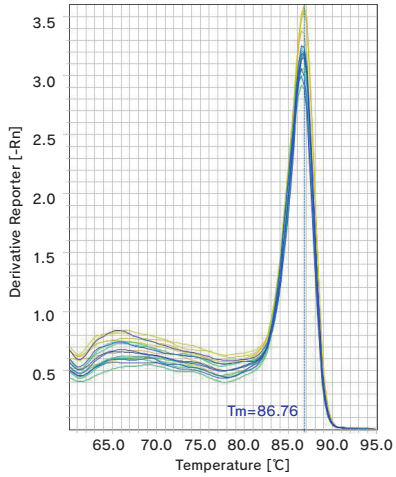
結 果

(i) 増幅曲線



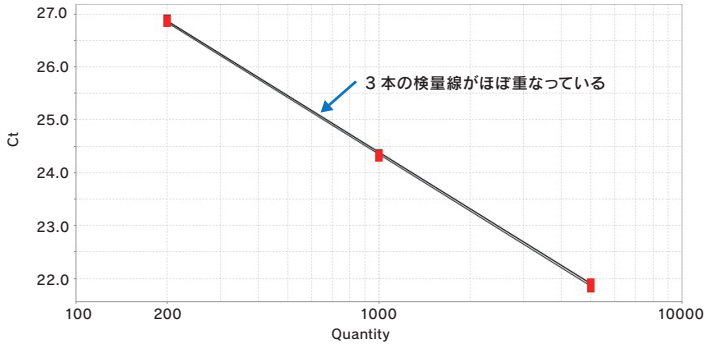
3製品共にほぼ同じ増幅曲線を描き、透明度等の影響によるシグナル強度の違いや、Ct値のずれは認められなかった。

(ii) 融解曲線



3製品共に同等のグラフを示した。
また、融解曲線でも良好なシングルピークで単一のPCR産物を示した。

(iii) 検量線における定量



	検量線の傾き	R^2	PCR反応効率
①	-3.56	1.00	91.06
②	-3.57	1.00	90.70
③	-3.55	1.00	91.19

① LifeTechonologies
MicroAmp® Optical 8-cap Strip (#4323032)
② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)
③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)

3製品共にほぼ同じ検量線を描き、製品間での検量線の傾き、R^2、PCR反応効率に差は見られなかった。

まとめ

FastGene™ PCR フラットキャップ（8ch,12ch）は qPCR でコントロールとした qPCR 用の Optical Cap と同等の良好な結果が得られた。

日本ジェネティクス株式会社
http://www.n-genetics.com
TEL 03 (3813) 0961 FAX 03 (3813) 0962 info@genetics-n.co.jp