



Technical Data

## FastGene™ 0.1mL PCRチューブ評価試験

評価製品

FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ (Cat.No.FG-018FC)  
FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ (Cat.No.FG-011F)  
FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ (Cat.No.FG-018WF)

目的

FastGene™ 0.1 mL PCRチューブのリアルタイムPCRにおける性能を評価する。

評価方法

FastGene™ 0.1 mL PCRチューブの形状評価、リアルタイムPCR装置に用いた蒸発試験およびリアルタイムを実施した。  
また、増幅曲線及び検量線の評価の結果から、Capの透明度等の違いによるリアルタイムPCRの結果への影響を評価した。

評価試験

1. チューブの形状評価 2. 蒸発試験 3. リアルタイムPCR試験

評価製品



① FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ  
(Cat.No.FG-018FC)  
(FastGene™ CapEasy v2対応)



② FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ  
(Cat.No.FG-011F)



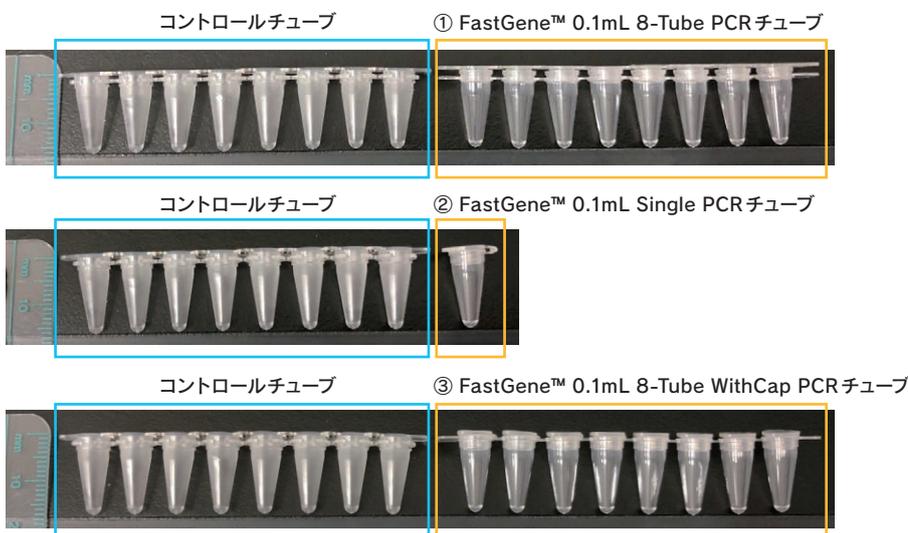
③ FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ  
(Cat.No.FG-018WF)

### 1. チューブの形状評価

リアルタイムPCR装置に使用できるかどうかについて、各チューブの形状を評価した。

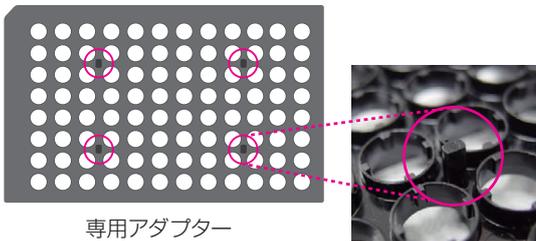
- 使用装置：当社ラボ所有のリアルタイムPCR装置 (StepOnePlus™及びQuantStudio® 5 (Thermo Fisher Scientific社))
- コントロールチューブ及びキャップ：Thermo Fisher Scientific社 MicroAmp™ Fast 8-Tube Strip, 0.1 mL (Cat.No.4358293)  
Thermo Fisher Scientific社 MicroAmp™ Optical 8-Cap Strips (Cat.No.4323032)

各チューブの形状の違い



## チューブと専用アダプター

今回使用した装置の専用アダプターには4か所の突起があり、この突起にチューブが当たる可能性があるため、装置にセットできるかを確認した。



専用アダプター

①FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCR チューブおよび②FastGene™ 0.1mL Single PCR チューブは、専用アダプターの突起に当たることなく、装置にセットできた。

③FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブのみ、専用アダプターの突起に当たり、チューブとフタの接続部分が少し曲がったが、チューブの開閉には影響はなく、破損および液漏れもなかった。



## 2. 蒸発試験

色素水を分注した各チューブを用いて、PCR試験を想定したプログラムによるランを実施し、蒸発による液量の変化を調べた。

### 試験手順

- 1) 各チューブに、マルチチャンネルピペットを使用して 20  $\mu$ L ずつ色素水を分注し、それぞれキャップを閉めた。
- 2) 遠心機を用いてスピンドウンし、目視で確認した。
- 3) 専用アダプターにセットした。

### チューブの配置

チューブとプレートの圧力のかかり方を見るため、以下のように配置した。

パターンA：最小の3列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

パターンB：最大の12列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

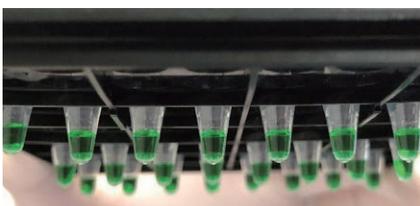
- 4) 当社ラボ所有のリアルタイムPCR装置本体にセットし、下記のプログラムでランを実施した。

### プログラム

Step	Temp	Time	Cycle
Initial denaturation	95°C	20 sec	40 cycles
Cycle Reaction	95°C	3 sec	
	60°C	30 sec	
Melting Curve	95°C	15 sec	—
	60°C	1 min	
	95°C	15 sec	

- 5) ラン終了後、スピンドウンを行い、蒸発の有無を目視によりチェックした。

### 蒸発試験の結果



全てのチューブで問題なくランが開始され、正常に終了した。ラン後の顕著な蒸発も見られなかった。

### 3. リアルタイムPCR試験

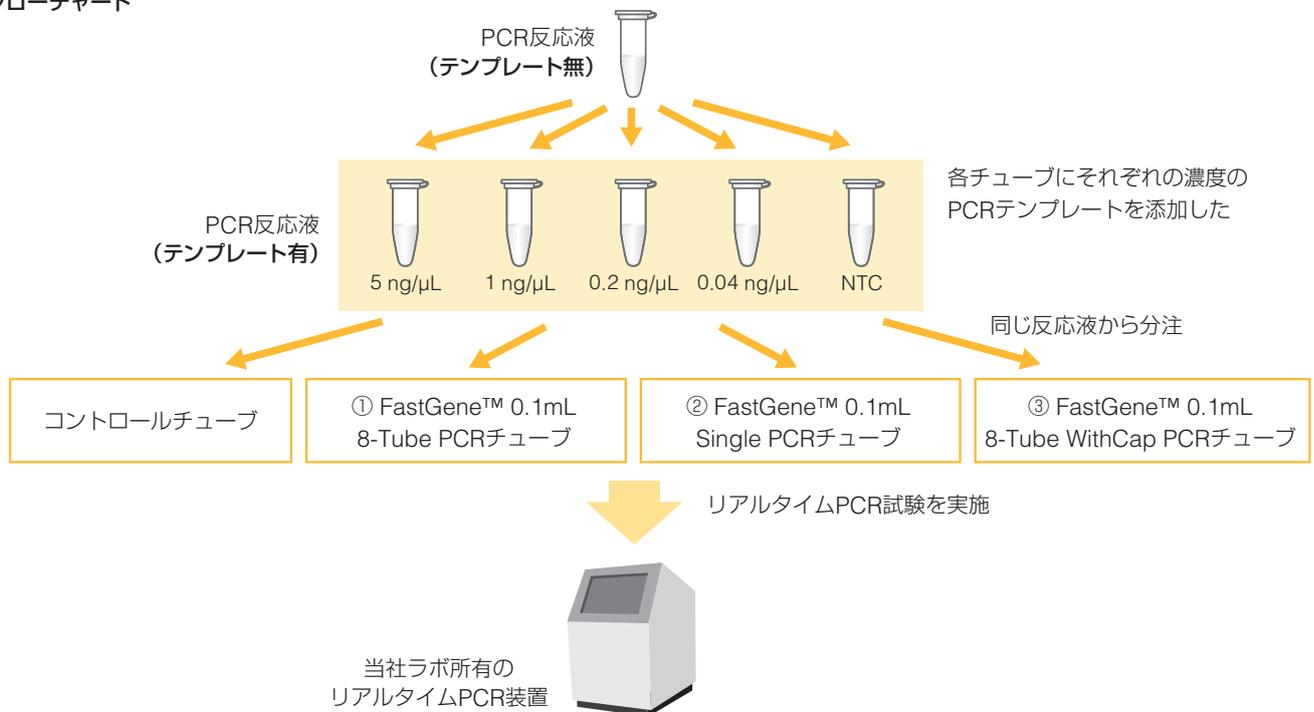
各チューブ自体のリアルタイムPCR試験の結果への影響を確認した。

#### 試験条件

- **使用試薬** : KAPA SYBR Fast qPCRキット (Universal qPCRキット)(Cat.No. KK4601)
- **プライマー** : Act-F1, Act-R1 (10 μM) <beta-actin: 294bp amplicon>  
 Act-F1 : TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA  
 Act-R1 : CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG
- **PCRテンプレート** : Roche社 Human Genomic DNA (Cat.No. 11691112001) 希釈系列
  - a. 5 ng/μL (1666.5 copies/μL)
  - b. 1 ng/μL
  - c. 0.2 ng/μL
  - d. 0.04 ng/μL
  - e. 0 ng/μL (Non Template Control: NTC)
- **反応組成**

Distilled water	7.6 μL
KAPA SYBER FAST qPCR Mster Mix (2x)	10.0 μL
PrimerF : Act-F1 (10μM each)	0.2 μL
PrimerR : Act-R1 (10μM each)	0.2 μL
Human Genomic DNA (a ~ e)	2.0 μL
<b>Total</b>	<b>20.0 μL</b>

#### ● フローチャート



#### 試験手順

- 1) テンプレート以外を加えたPCR反応液 (テンプレート無) を作成した。
- 2) PCR反応液 (テンプレート無) を5本に分注し、それぞれの濃度のテンプレートを加えてPCR反応液 (テンプレート有) を作成した。
- 3) それぞれの濃度のPCR反応液 (テンプレート有) を下記の各チューブ (3本ずつ) にそれぞれ分注した。

#### チューブ

- コントロールチューブ
- ① FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ
- ② FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ
- ③ FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ

#### プレートレイアウト

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A			a			a				a		
B			b			b				b		
C			c			c				c		
D			d			d				d		
E			e			e				e		
F												
G												
H												

- a. 5 ng/μL (1666.5 copies/μL)
- b. 1 ng/μL
- c. 0.2 ng/μL
- d. 0.04 ng/μL
- e. 0 ng/μL (Non Template Control: NTC)

4) 当社ラボ所有のリアルタイムPCR装置本体にセットし、ランを開始した。

#### プログラム

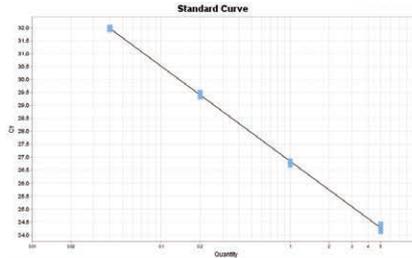
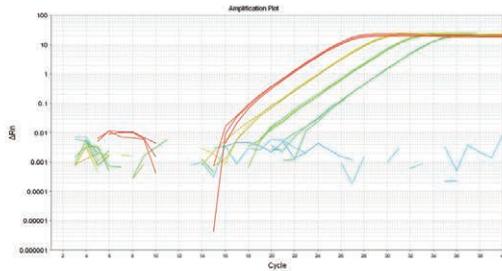
Step	Temp	Time	Cycle
Initial denaturation	95°C	20 sec	40 cycles
Cycle Reaction	95°C	3 sec	
	60°C	30 sec	
Melting Curve	95°C	15 sec	
	60°C	1 min	
	95°C	15 sec	

5) ラン終了後、解析をし、増幅曲線および検量線、Ct値を確認した。

#### 増幅曲線と検量線の結果

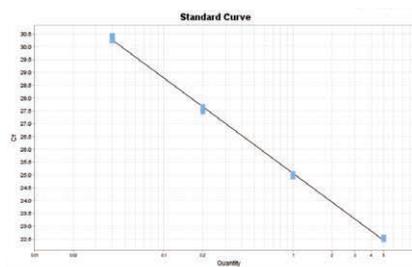
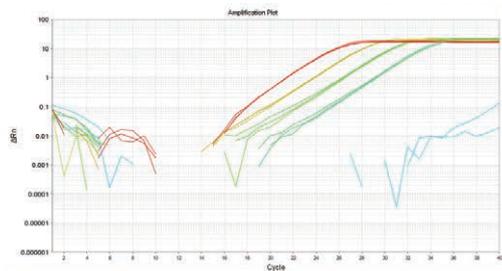
一部のデータのみ掲載

##### ● コントロールチューブ



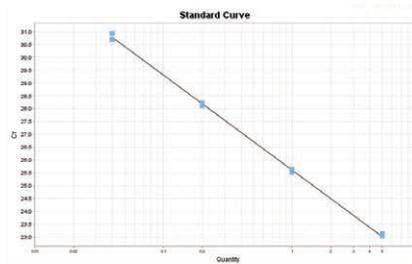
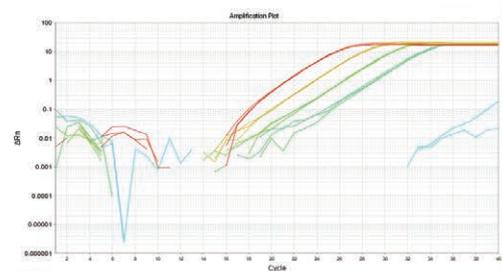
Eff% 87.035  
R<sup>2</sup> 0.999

##### ① FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ



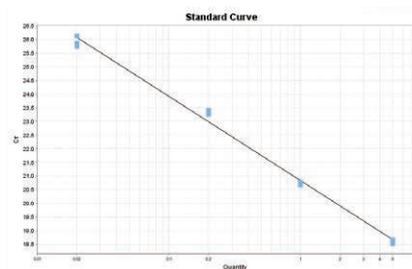
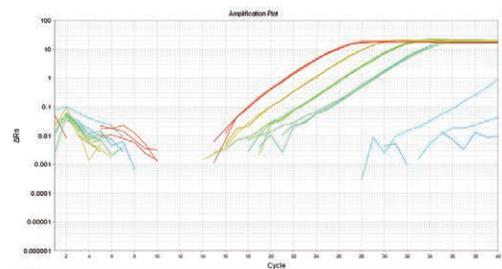
Eff% 85.724  
R<sup>2</sup> 0.998

##### ② FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ



Eff% 85.994  
R<sup>2</sup> 0.999

##### ③ FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ



Eff% 110.711  
R<sup>2</sup> 0.994

全てのチューブでランが正常に終了した。  
希釈系列と合致した増幅曲線および直線性がある (R<sup>2</sup>≥0.99) 検量線が得られた。

**Ct値の結果**

一部のデータのみ掲載

各チューブごとにCt値 (Mean) を算出し、以下にまとめた。

チューブ	PCRテンプレート	a. 5 ng/μL	b. 1 ng/μL	c. 0.2 ng/μL	d. 0.04 ng/μL
コントロールチューブ		24.29	26.8	29.43	31.97
①FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ		22.54	24.99	27.57	30.35
②FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ		18.61	20.72	23.33	25.92
③FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ		23.07	25.56	28.16	30.85

※ 各ランはチューブ毎に実施した。  
本結果は、ラン間 (チューブ間) の比較結果でない。

全てのチューブで希釈系列と合致したCt値が得られた。

**結果のまとめ****1. チューブの形状評価**

今回の評価した全てのチューブが、当社ラボ所有のリアルタイムPCR装置にセットできた。

**2. 蒸発試験**

全てのチューブで問題なくランが開始され、正常に終了した。目視によるラン後の顕著な蒸発は確認されなかった。

**3. リアルタイムPCR試験**

ランデータの結果から、問題なくPCR反応が行われたことが確認できた。

3反復で検証を行い、再現性も得られた。

**まとめ**

下記のFastGene™ 0.1 mL PCRチューブが当社ラボ所有のリアルタイムPCR装置 (2機種) で使用できると判断された。

- ① FastGene™ 0.1mL 8-Tube PCRチューブ (Cat.No.FG-018FC)
- ② FastGene™ 0.1mL Single PCRチューブ (Cat.No.FG-011F)
- ③ FastGene™ 0.1mL 8-Tube WithCap PCRチューブ (Cat.No.FG-018WF)



WEB製品ページ

FastGene™ は Nippon Genetics Co., Ltd. の商標です。

StepOnePlus™及び QuantStudio® は LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION の商標です。