



Application

低発現遺伝子の相対定量

製品名

KAPA SYBR Fast qPCRキット

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、独立行政法人理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター細胞システムモデル化研究チーム 佐伯夕子様のご厚意により掲載させていただきます。

実験条件

ヒト乳ガン由来MCF-7細胞をHRG(heregulin)で刺激し、0、0.5、2、4時間後の低発現遺伝子の発現量をGAPDH遺伝子をリファレンスとして相対定量しました。

リアルタイムPCR用試薬として、下記の3製品を比較しました。

●試薬

B社製品 (EvaGreen®蛍光色素使用)
T社製品 (SYBR®Green蛍光色素使用)
KAPA SYBR Fast qPCRキット (SYBR®Green蛍光色素使用)

●反応組成

2×マスターミックス 10μL
5μM primer F 0.8μL (最終濃度 0.2μM)
5μM primer R 0.8μL (最終濃度 0.2μM)
DNA 5ng
ddH2O up to 20μL

●サイクルプログラム

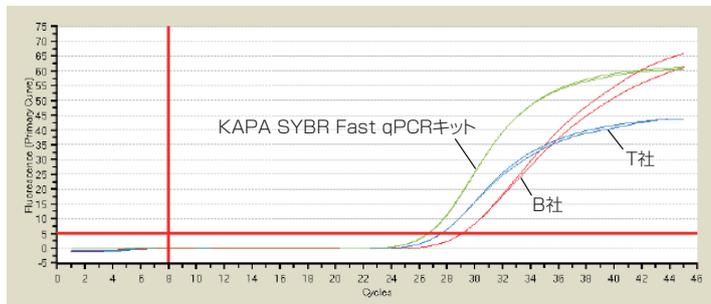
Enzyme activation	95°C	2 min	} 45 cycles
Denature	95°C	5 sec	
Anneal/Extend	60°C	30 sec	

●装置

TaKaRa Thermal Cycler Dice TP800

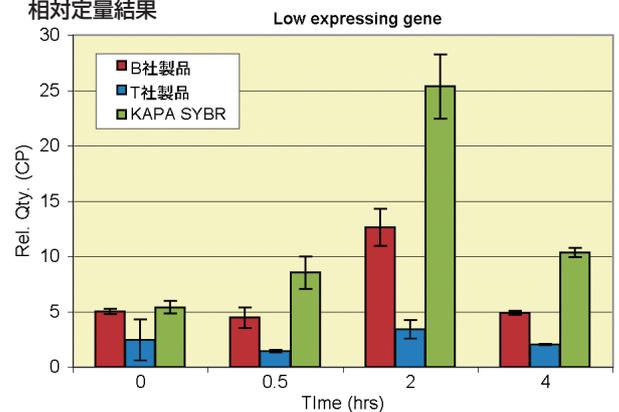
結果

Amplification Plots(低発現遺伝子)



赤: B社製品 (EvaGreen®蛍光色素使用)
青: T社製品 (SYBR®Green蛍光色素使用)
緑: KAPA SYBR Fast qPCRキット (SYBR®Green蛍光色素使用)

相対定量結果



KAPA SYBR Fast qPCRキットでは、明瞭な相対定量結果が得られました。



お客様のコメント

従来品ではこれまで経時的な発現変化が確認できなかったような低発現の遺伝子がKAPAで解析可能になったこと、またその他の遺伝子も従来品と同様に検出できるので再現性が取れました。

<参考文献>

KAPA SYBR Fast qPCRキットは、下記の論文でもご使用いただいております。

T.Nakakuki et al., Ligand-Specific c-Fos Expression Emerges from the Spatiotemporal Control of ErbB Network Dynamics, Cell 141, 1-13, 2010
ErbBネットワークダイナミクスの時空制御によるリガンド特異的なc-Fos発現