



Application

ブタ大動脈内皮細胞の発現RNAの絶対定量

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、筑波大学大学院 生命環境科学研究科 宮崎 均教授 のご厚意により掲載させていただきました。

実験条件

下記の条件で、リアルタイムPCR用試薬として4製品を比較しました。
テンプレートcDNAは5倍ずつ6段階に希釈し、2連で反応を実施しました。

●リアルタイムPCR用試薬

T社製品
A社製品
R社製品
KAPA SYBR Fast qPCR キット

●反応組成

2×マスターミックス	10μL
10μM primer F	0.4μL (最終濃度 0.2μM)
10μM primer R	0.4μL (最終濃度 0.2μM)
テンプレートcDNA	2μL
Rox Reference Dye (50×)	0.4μL
ddH2O	up to 20μL

●装置

ABI7300

●テンプレート cDNA

ブタ大動脈血管内皮細胞からRNAを抽出し、分光光度計でRNA量測定後、逆転写反応によりcDNAを合成しました。
cDNA濃度16ng/μLのストック溶液として調製しました。

●サイクルプログラム

50°C	2min	} ×40
95°C	10min	
95°C	15sec	
60°C	1min	
60°C	30sec	
95°C	15sec	

●プライマー標的遺伝子増幅産物 カタラーゼ

結果

図1：増幅曲線の比較

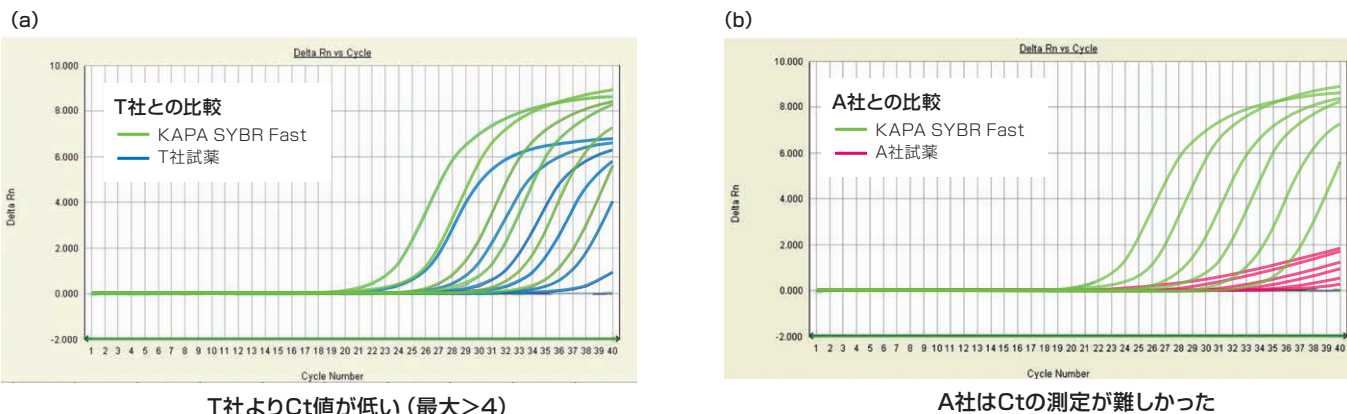


表1：Ct値の比較

テンプレート濃度pg/μl	KAPA	(a) T社	(b) A社	(c) R社
3000	20.91	23.23	27.45	21.80
600	23.19	26.98	29.32	23.63
120	25.74	29.62	32.16	25.88
24	27.99	31.28	34.90	28.42
4.8	30.73	33.96	37.19	30.96
0.96	33.73	37.78	ND	35.05

KAPA SYBR Fast qPCRキットでは、最もCt値が低く、高感度に検出が可能でした。



図2：融解曲線データ

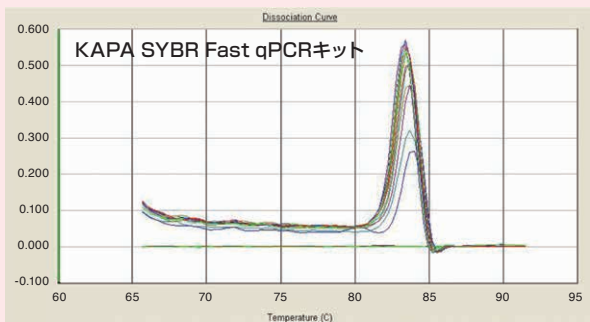
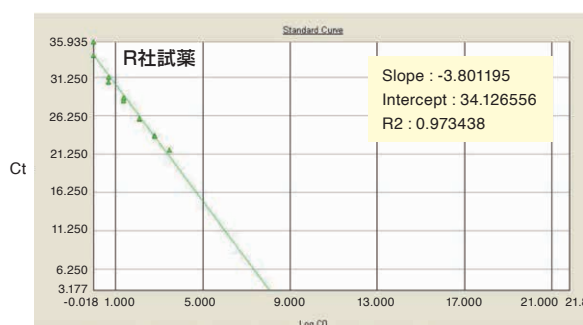
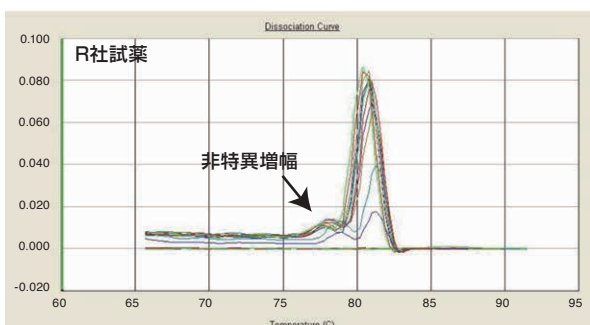
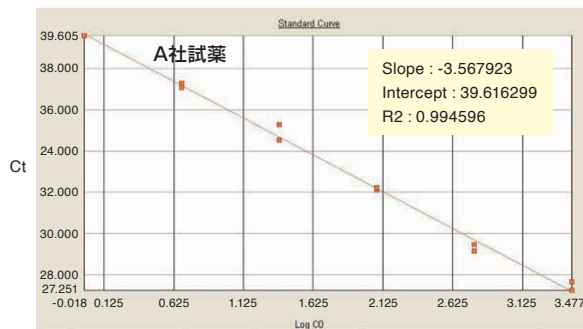
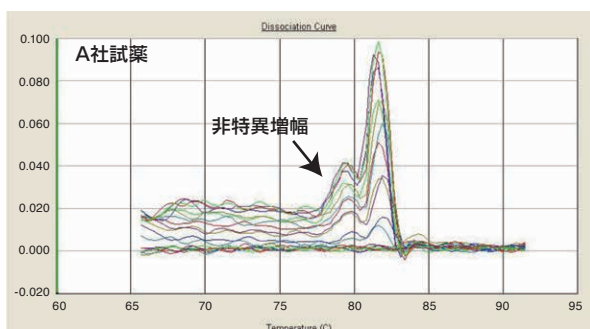
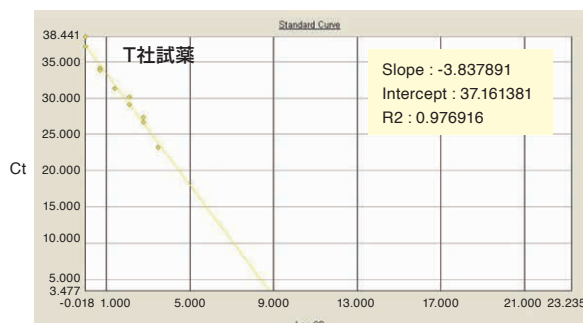
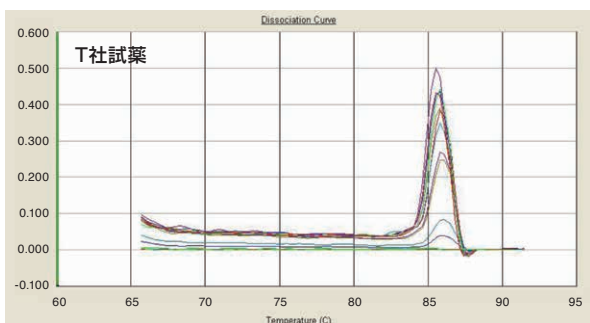
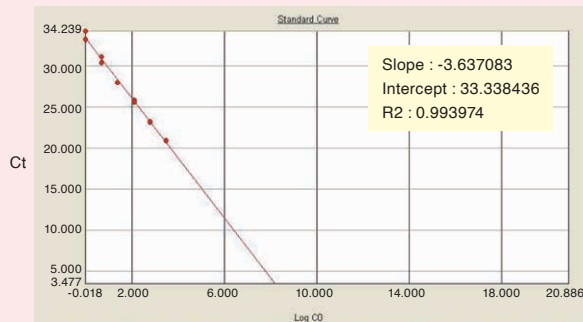


図3：検量線データ



KAPA SYBR Fast qPCRキットでは、非特異増幅は見られませんでした。

KAPA SYBR Fast qPCRキットでは、最も安定した信頼性が高い検量線データが得られました。



お客様のコメント

調製可能なRNA量が微量な時、定量感度がよければより多くの種類の遺伝子発現を調べることができます。従って、本製品のような感度がよい定量PCRが可能な系は、研究者にとって実験の効率化や幅を広げる上で非常に重要になってきます。

