



Application

# リアルタイムPCRによる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、東京大学医科学研究所臨床ゲノム腫瘍学分野 山口貴世志先生のご厚意により掲載させていただきました。

## 実験条件

大腸癌細胞株にコントロールsiRNAとbeta-catenin siRNAを処置したサンプルを用いました。siRNAのノックダウン効果を確認するために、その下流遺伝子であるAXIN2遺伝子発現を相対定量しました。リアルタイムPCR用試薬として、下記の2製品を比較しました。

### ●試薬

A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  
primer F 0.5μL (最終濃度 0.25μM)  
primer R 0.5μL (最終濃度 0.25μM)  
cDNA 2μL (10ng total RNA 当量)  
ddH2O up to 20μL

### ●サイクルプログラム

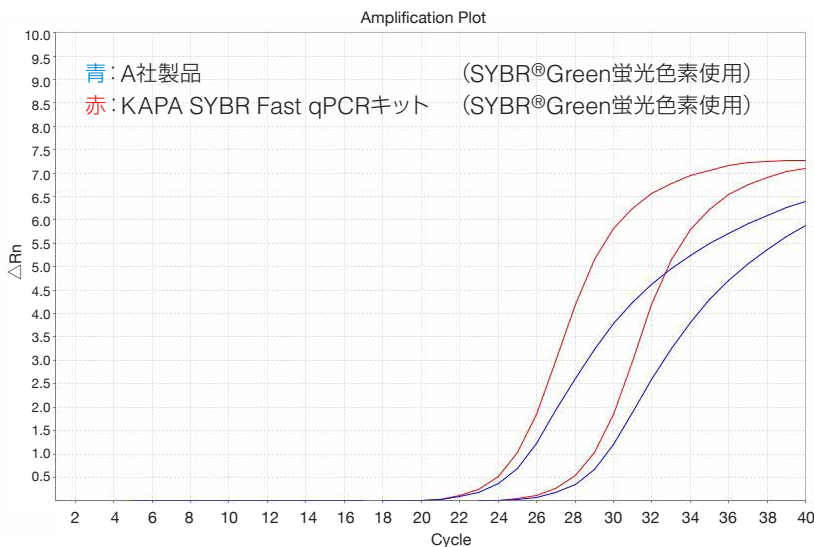
95°C 20sec  
95°C 3sec  
60°C 30sec } 40cycles

### ●装置

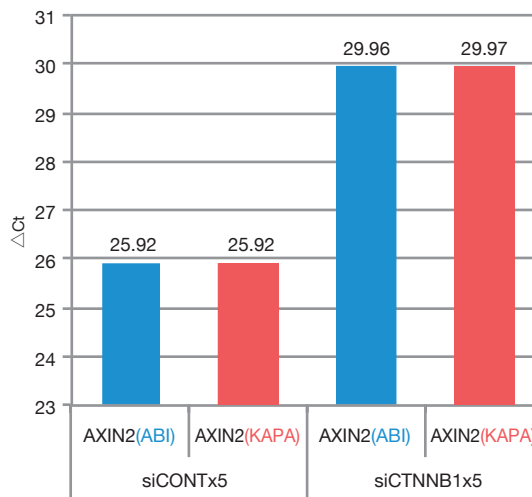
StepOnePlusリアルタイムPCR (Life Technologies社)

## 結果

### Amplification Plots (低発現遺伝子)



### 相対定量結果



お客様のコメント

比較Ct法による定量の結果、AXIN2の発現はsiRNAによって低下することが確認できた。この変化における両試薬間で相対定量の評価においての差はなかった(同様の結果が得られた)。検出感度においては、KAPA-SYBR(Fast)の方が高感度であった。