

一般研究用試薬 (For general laboratory use.)

## EagleTaq Universal Master Mix (ROX)

加水分解プローブを用いたリアルタイム PCR 用マスターミックス(2×濃度)

Cat. No. 07 260 288 190 1 ml (100 x 20µl 反応)

Cat. No. 07 260 296 190 5 ml (500 x 20µl 反応)

Cat. No. 07 249 926 190 10×5 ml (5,000 x 20µl 反応)

\*本製品は EagleTaq Master Mix with ROX(05 876 486 001)が包装変更された製品です。

Ver.1/2014.10

保存温度-15~-25°C

### 製品説明

本製品は、加水分解プローブ検出に最適な 2 x 濃度のリアルタイム PCR 用マスターミックスです。ROX リファレンス色素による補正を必要とするあらゆるリアルタイム PCR 機器に対応しています。本製品は、Roche Molecular Systems, Inc が提供する、PCR 酵素として最も定評のある酵素”EagleTaq DNA ポリメラーゼ”を採用しております。

### マスターミックス内容

本試薬は、EagleTaq DNA ポリメラーゼ、dNTP (dUTP を含む)、ROX リファレンス色素、専用バッファーを含む、2x 濃度のマスターミックス試薬です。プローブ、プライマー、テンプレート以外の必要な試薬が含まれています。

### 保存方法

未開封のキットは、-15~-25°Cで保存してください。開封後は+2~+8°Cで3ヶ月間安定です。

### PCR 反応液セットアップ

コンポーネント	容量	最終濃度
EagleTaq Universal Master Mix(ROX) 2x	10 µl	1×
加水分解プローブ	適宜	0.1-0.2 µM
Forward プライマー	適宜	0.1-1 µM
Reverse プライマー	適宜	0.1-1 µM
H <sub>2</sub> O	適宜	
テンプレート (DNA や cDNA)	適宜	gDNA: ~250 ng cDNA: ~50 ng
合計	20 µl	

\* プライマーやテンプレート濃度は1例です。適宜調節して下さい。プライマー、テンプレートやサンプルの希釈には、PCR グレードの H<sub>2</sub>O または Tris バッファー(5-10mM, pH 7.5-8.0)等をご利用ください。EDTA は中の Mg<sup>2+</sup>濃度が変化してしまいますので避けてください。  
\*\* cDNA 原液は反応液量の 10%を超えて持ち込むと、PCR 反応を阻害することがあります。まずは、x10、x100 など段階希釈して増幅確認することをおすすめします (阻害がある場合は、増幅シグナルが等間隔で得られません)。

### PCR 反応プロトコール

現在ご利用のリアルタイム PCR の反応プロトコールでほとんどの場合は問題なくご利用いただけます。ご参考のため、典型的なリアルタイム PCR の反応プロトコールを一例として以下に示します。

Step	UNG*	Activation	PCR	
	Hold	Hold	Cycles (40 Cycles)	
			Step 1	Step 2
時間	2min	10min	15sec	60sec
温度	50°C	95°C	95°C	58~60°C

\* UNG 添加によるキャリーオーバーコンタミネーション防止の場合のみ必要です (UNG ご利用の場合には別途「LightCycler® Uracil-DNA Glycosylase (03 539 806 001)」をお求めください)。

### トラブルシューティング

トラブル現象	原因	対応方法
増幅蛍光が検出できない、ゲル電気泳動でもバンドが検出できない	PCR プログラムが適切でない	PCR プログラムを調整する
	ピペッティングの失敗	ピペッティングステップを再確認する。ピペットを校正する。
	アンプリコンが長すぎる	プライマーを再デザインする
	テンプレートに PCR 阻害物質が含まれる	サンプルを再精製または希釈して反応する。

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社  
〒105-0014 東京都港区芝2丁目6番1号  
TEL.: 03-5443-5287 FAX.: 03-5443-6654  
E-Mail: tokyo.as-support@roche.com