



Technical Data

リアルタイムPCRによる評価

FastGene™ PCR粘着クリアシール (FG-93AC) ・ qPCR圧着クリアシール (FG-95PC)

評価製品

FastGene™ PCR粘着クリアシール (Cat.No. FG-93AC)
FastGene™ qPCR圧着クリアシール (Cat.No. FG-95PC)

目的

FastGene™ PCR粘着・圧着クリアシールがリアルタイムPCRに問題なく使用できるかを評価するため、既に4titude社でqPCR用圧着シールとして市販されている圧着シール (4ti-0560) と比較したテストを実施した。

qPCR条件

qPCR装置： StepOnePlus LifeTechnologies (ABI)
プレート： 4titude FrameStar® フロストプレート (Cat.No. 4ti-0912)
シール： <評価製品> FastGene™ PCR粘着クリアシール (Cat.No. FG-93AC)
FastGene™ qPCR圧着クリアシール (Cat.No. FG-95PC)
<比較製品> 4titude (Cat.No. 4ti-0560)
qPCR試薬： KAPA SYBR Fast qPCR Kit
テンプレートDNA： Roche Human Genomic DNA (#11 691 112 001) 5.0ng/μL
プライマー： Act-F1, Act-R1 (10μM) <β-actin: 294bp amplicon>
Act-F1 : TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA
Act-R1 : CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG

| DNA conc. [ug/μL] | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|-------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| 5000 | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| 1000 | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| 200 | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| 40 | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| NTC | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |
| | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● | ● |

● 反応組成

| | |
|-----------------|--------|
| 2xMaster Mix | 10.0μL |
| SDW | 7.6μL |
| Primer F (10μM) | 0.2μL |
| Primer R (10μM) | 0.2μL |
| Template DNA | 2.0μL |
| total | 20.0μL |

● サイクルプログラム (StepOneデフォルト Fastサイクル)

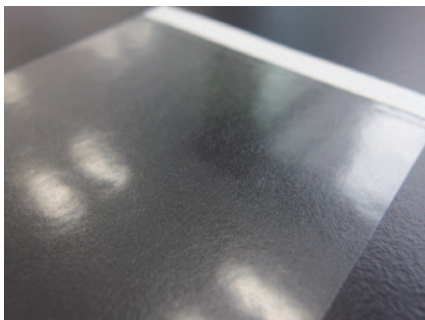
| | | | |
|------------------|------|-------------------------------|------------|
| Initial Denature | 95°C | 20sec | |
| Denature | 95°C | 3sec | |
| Anneal/Extension | 60°C | 30sec (detection) | } 40 cycle |
| Melting Curve | 95°C | 15sec | |
| | 60°C | 1min | |
| | 95°C | 15sec (+0.3°C step detection) | |

※ サイクルシミュレーション：20μL

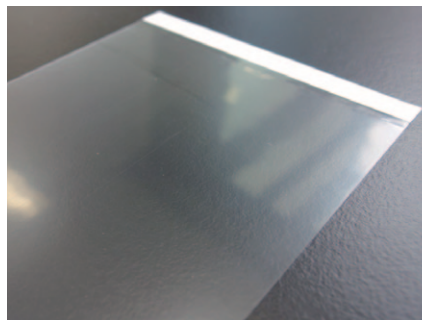
外観評価

評価製品

FastGene™ PCR粘着クリアシール
(Cat.No. FG-93AC)

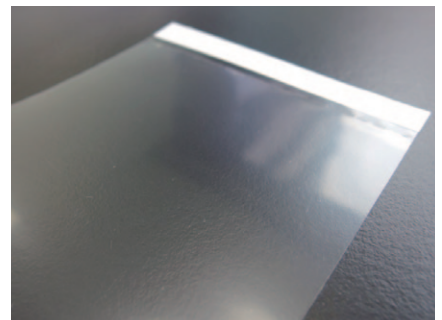


FastGene™ qPCR圧着クリアシール
(Cat.No. FG-95PC)



比較製品

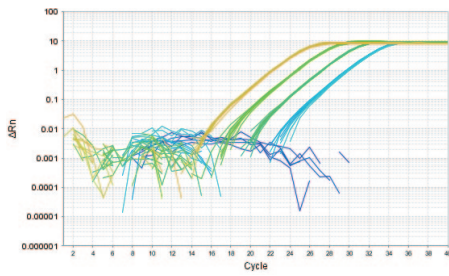
4titude 圧着シール
(4ti-0560)



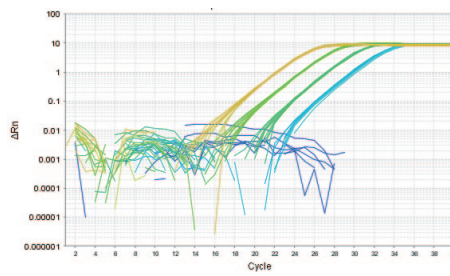
外観評価まとめ

粘着シールは、圧着シールよりもフィルム表面に凹凸が認められた。この凹凸は粘着剤によるものと考えられた。

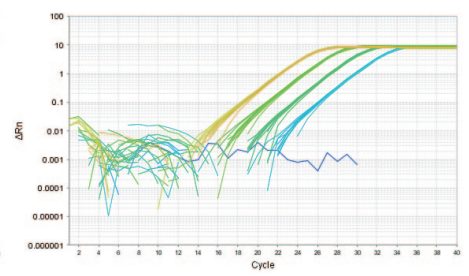
増幅曲線による評価

FastGene™ PCR粘着クリアシール
(Cat.No. FG-93AC)


| Conc. [ug/uL] | Ct | Ct SD |
|---------------|-------|-------|
| 5000 | 23.3 | 0.09 |
| 1000 | 25.82 | 0.08 |
| 200 | 28.31 | 0.07 |
| 40 | 30.96 | 0.11 |

FastGene™ qPCR圧着クリアシール
(Cat.No. FG-95PC)


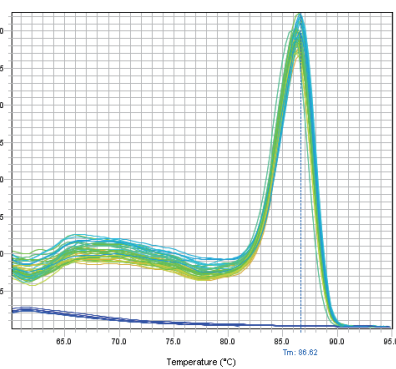
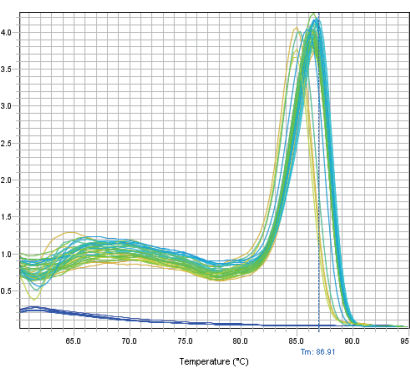
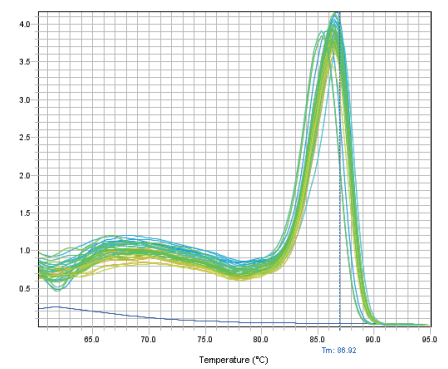
| Conc. [ug/uL] | Ct | Ct SD |
|---------------|-------|-------|
| 5000 | 23.38 | 0.07 |
| 1000 | 25.88 | 0.07 |
| 200 | 28.46 | 0.09 |
| 40 | 31.04 | 0.18 |

4titude 圧着シール
(4ti-0560)


| Conc. [ug/uL] | Ct | Ct SD |
|---------------|-------|-------|
| 5000 | 23.3 | 0.09 |
| 1000 | 25.81 | 0.12 |
| 200 | 28.31 | 0.11 |
| 40 | 30.89 | 0.09 |

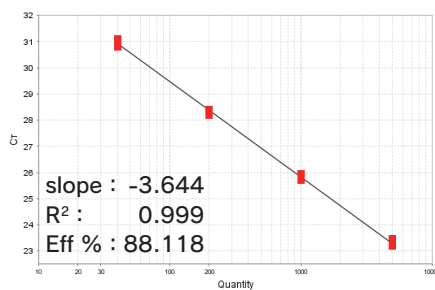
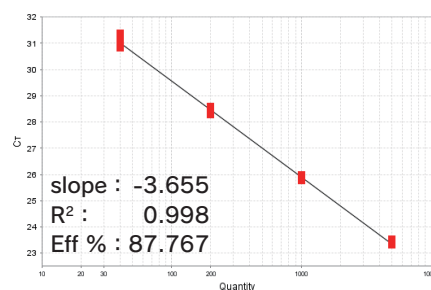
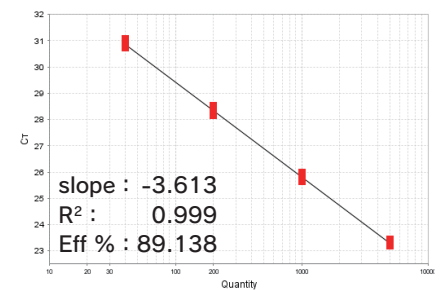
まとめ 増幅曲線に関して、どのシールも同程度の結果を示した。また、Ct値およびCt SDに関して、同程度の傾向だった。

融解曲線による評価

FastGene™ PCR粘着クリアシール
(Cat.No. FG-93AC)

FastGene™ qPCR圧着クリアシール
(Cat.No. FG-95PC)

4titude 圧着シール
(4ti-0560)


まとめ 融解曲線に関して、どのシールも同程度の結果を示した。

検量線による評価

FastGene™ PCR粘着クリアシール
(Cat.No. FG-93AC)

FastGene™ qPCR圧着クリアシール
(Cat.No. FG-95PC)

4titude 圧着シール
(4ti-0560)


まとめ 検量線に関して、どのシールも同程度の結果を示した。

結論

FastGene™ PCR粘着クリアシール (FG-93AC) ・ qPCR圧着クリアシール (FG-95PC) と同4titude社qPCR圧着シール (4ti-0560) と同等の結果が得られた。このことから、リアルタイムPCRに問題なく使用できると評価された。