



Technical Data

FastGene™ PCR CapのqPCR検証テスト

目的

FastGene™ PCRチューブのFlat CapについてqPCRでの性能を評価した

評価方法

qPCRにおいて、(i) 増幅曲線 (ii) 融解曲線 (iii) 検量線による定量の結果より、Capの透明度等の違いによるqPCRへの影響を評価した。

比較製品

- ① LifeTechnologies MicroAmp® Optical 8-Cap Strip (#4323032) (コントロール条件)
- ② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)
- ③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)

① LifeTechnologies MicroAmp® Optical 8-cap Strip (#4323032)



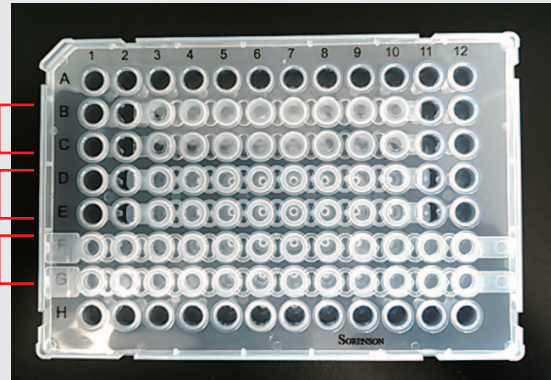
② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)



③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)



FastGene™ CapはOptical Capと比べ、透明感に違いがありキャップ面がわずかに白く見える。



qPCR条件

- qPCR装置: LifeTechnologies StepOnePlus™
- 96well Fast-PCRプレート: Sorenson #38800
- qPCR試薬: KAPA SYBR® FAST (KK4600)
- テンプレートDNA: Roche Human Genomic DNA (#11 691 112 001)
スタンダード DNA (3濃度, n=2)
 - a. 5000 pg/μL
 - b. 1000 pg/μL
 - c. 200 pg/μL
- サンプル DNA: 500 pg/μL (n=8, or n=12)
- プライマー: Act-F1, Act-R1 (10μM) <β-actin: 294bp amplicon>
Act-F1 : 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3'
Act-R1 : 5'-CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'
- 反応組成:

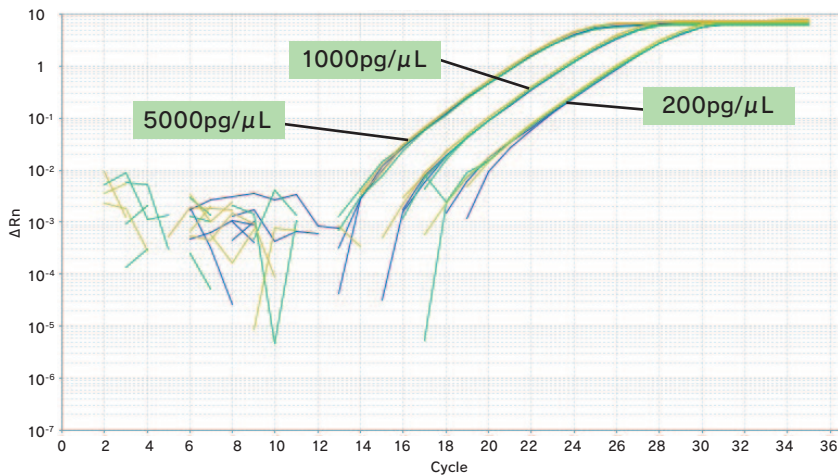
PCR grade water	7.6μL
KAPA SYBR® FAST	10.0μL
Primer F/R Mix (10μM each)	0.4μL
TemplateDNA	2.0μL
total	20.0μL / well

サイクルプログラム

- Initial Denature: 95°C 20sec
- Denature: 95°C 10sec
- Anneal/Extension: 60°C 45sec (detection)
<35cycles>
- Melting Curve: 95°C 15sec
60°C 1min
95°C 15sec (+0.3°C step detection)

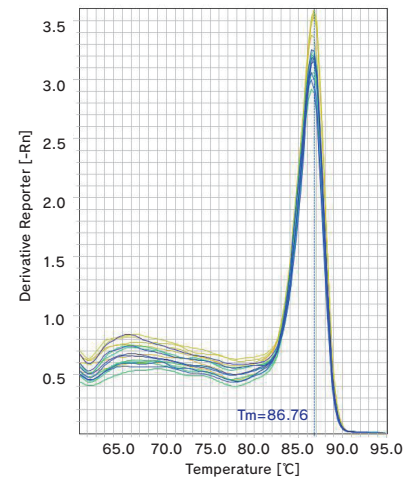
結果

(i) 増幅曲線



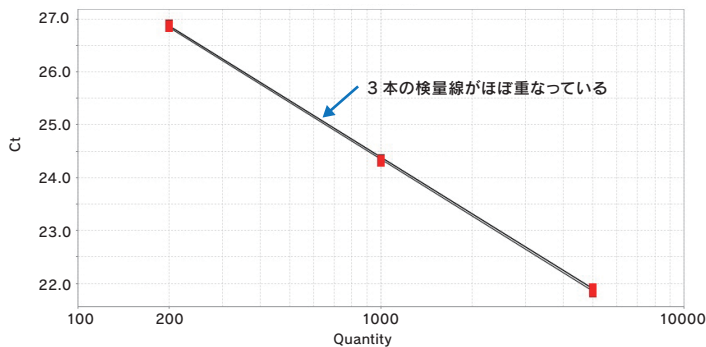
3製品共にはほぼ同じ増幅曲線を描き、透明度等の影響によるシグナル強度の違いや、Ct値のずれは認められなかった。

(ii) 融解曲線



3製品共に同等のグラフを示した。また、融解曲線でも良好なシングルピークで単一のPCR産物を示した。

(iii) 検量線における定量



	検量線の傾き	R ²	PCR反応効率
①	-3.56	1.00	91.06
②	-3.57	1.00	90.70
③	-3.55	1.00	91.19

- ① LifeTechnologies
MicroAmp® Optical 8-cap Strip (#4323032)
- ② FastGene™ 8ch Flat Cap (#FG-008FC)
- ③ FastGene™ 12ch Flat Cap (#FG-012FC)

3製品共にはほぼ同じ検量線を描き、製品間での検量線の傾き、R²、PCR反応効率に差は見られなかった。

まとめ

FastGene™ PCR フラットキャップ (8ch,12ch) は qPCR でコントロールとした qPCR 用の Optical Cap と同等の良好な結果が得られた。

FastGene™ は Nippon Genetics Co., Ltd. の商標です。
 StepOnePlus™ は LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION の商標です。
 SYBR® は Molecular Probes, Inc. の登録商標です。
 MicroAmp® は Applied Biosystems, LLC./ LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION の登録商標です。