

GeneSoC®

RT-PCR Master Mix

取扱説明書



GeneSoC® RT-PCR Master Mix は逆転写反応を含めた超高速 PCR を行うために最適化された超高速リアルタイム PCR 装置 GeneSoC® mini R 専用の RT-PCR 試薬です。PCR 酵素、バッファー、基質その他、マイクロ流路 PCR に必要な成分が予め混合されているため、一般的なリアルタイム RT-PCR で使用されている各種プローブやプライマーを組み合わせて手軽に逆転写反応を含めた超高速 PCR を行うことができます。

I. 内容 (40 回分)

GeneSoC® RT-PCR Master Mix 270 μ L \times 2 本

II. 保存

-20 \pm 5 $^{\circ}$ C(遮光)

※凍結融解は 20 回以内としてください。

凍結融解を避けるために少量ずつ小分け分注して凍結保管することも可能です。

III. 本製品以外に必要な試薬、機器 (主なもの)

【器具】

- GeneSoC® mini 専用測定チップ(以下、専用測定チップ)
- 各種マイクロピペット
- マイクロピペット用フィルター付チップ
- 試薬調製用マイクロチューブ

【機器】

- 超高速リアルタイム PCR 装置 GeneSoC® mini R
※本製品は、GeneSoC® mini R 専用試薬であり、マイクロ流路型遺伝子定量装置 GeneSoC® には対応していません。
- 小型卓上遠心機
- ボルテックスミキサー

【試薬】

- フォワードプライマー
- リバースプライマー
- 加水分解プローブ
※検出したい塩基配列に対応したものを別途ご用意ください。超高速 PCR の特性上、なるべく増幅産物が短いもの(目安として 200bp 以下)をご使用ください。加水分解プローブの蛍光標識は、FAM(青)、HEX(緑)、Cyanine5(赤)の使用実績がございますが、初めて検討される場合は、FAM 標識のご使用をお勧めいたします。

IV. 使用上の注意

本製品を使用する際の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

1. 使用目的

本製品は研究用試薬です。

2. 廃棄

- 感染性を有する試料は、各施設の安全規定に従って廃棄してください。
- 作業区域は常に清潔に保ち、検査に用いた器具等は高圧蒸気滅菌器を用いて 121 $^{\circ}$ C で 20 分間以上高圧蒸気滅菌処理、又は次亜塩素酸ナトリウム液で処理を行った上、各施設の感染性廃棄物処理マニュアルに従って処理してください。
- PCR 反応後の専用測定チップは、高圧蒸気滅菌処理は行わないでください。処理を行うと PCR 増幅産物によるコンタミネーションの原因となりますので、密閉したまま廃棄してください。
- 試薬を廃棄する際は多量の水で流してください。
- 試薬容器、専用測定チップ並びに器具は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律に従って処理してください。

V. 操作上の注意

1. 試薬は解凍後氷上で保存し、PCR 反応液の調製、分注などの操作は氷上で行ってください。
2. 専用測定チップへのアプライ方法及び GeneSoC® mini R の操作方法につきましては、各取扱説明書に従ってください。

VI. 操作

1. GeneSoC® RT-PCR Master Mix を融解します。
※RT-PCR Master Mix を室温に静置する、或いは手で握るなどして解凍します。
2. 軽く転倒混和、スピンドウン後、氷上に静置します。
3. GeneSoC® RT-PCR Master Mix 12 μ L を PCR グレードのマイクロチューブに採取します。
4. プライマー及びプローブを添加し、最後にテンプレートを添加して、Total 20 μ L の反応液とします。
5. 反応液を軽く混合、スピンドウンしたのち、18~20 μ L を専用測定チップにアプライし、測定を開始します。

反応組成(例)

GeneSoC® RT-PCR Master Mix	12 μ L
10 μ M フォワードプライマー※	1 μ L
10 μ M リバースプライマー※	1 μ L
5 μ M 加水分解プローブ※	1 μ L
テンプレート RNA	2 μ L
RNase-free Water	3 μ L
Total	20 μ L

※ 適切なプライマー及びプローブ濃度は、標的配列により異なります。市販のプライマー/プローブセットを使用する場合は、添加量を増やすことで改善する場合がございます。また、複数回測定する場合は、GeneSoC® RT-PCR Master Mix、プライマー及びプローブを予め混合しておくことと便利です。その場合はアルミホイルなどで遮光して氷上に静置し、調製後 4 時間以内を目途に使い切ってください。

VII. 測定プロトコルについて

以下の QR コードから標準プロトコルを自動入力の上、必要に応じてプロトコル名やターゲット名、各パラメータを設定ください。適切な AE 温度及び時間は、プライマー/プローブ配列の種類、標的配列の長さ等により異なります。



(参考情報)

項目	標準プロトコルの値	推奨範囲	コメント
RT 温度[°C]	42.0	42.0	RT 反応を行わない場合でも入力が必要です。
HS/DN 温度[°C]	96.0	95.0~98.0	-
AE 温度[°C]	60.0	50.0~70.0	適切な AE 温度は、プライマー/プローブの性質により異なるため、検討が必要です。
RT 時間[sec]	60.0	30~180	RT 反応を行わない場合は 0 を設定します。
ステップ 2, 3	チェックなし	-	通常使用しません。任意のサイクル数毎に反応時間を変えたい場合のみ使用します。
HS 時間[sec]	10.0	5.0~10.0	専用測定チップ内に生じた気泡により測定値がばらついた場合は、短く設定することにより改善することがあります。
DN 時間[sec]	4.0	2.0~5.0	
AE 時間[sec]	10.0	3.0~12.0	標的配列の長さ、プライマー/プローブの性質に応じた調節が必要です。短く設定することにより、測定時間を短縮できることがあります。
サイクル数	50	40~60	サイクル数を減らすことにより測定時間を短縮することが可能です。

VIII. 注意

- 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物等の医療・臨床診断には使用しないでください。
- 杏林製薬株式会社の承認を得ずに製品を再販・譲渡すること、再販・譲渡のために改変すること、あるいは商用製品の製造に使用することを禁じます。
- GeneSoC® は杏林製薬株式会社の登録商標です。その他、本説明書に記載されている会社名及び製品名などは、各社の商号、又は登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品に関するお問い合わせ
杏林製薬株式会社 くすり情報センター
 TEL: 0120-952956
 受付時間: 9:00~17:00 (月~金 ※土日祝除く)

GeneSoC 製品 Web サイト
 URL: <https://www.genesoc.jp/>