

TaqMan® Gene Expression Master Mix

Quick Reference Card

安全およびバイオハザード指針については、TaqMan® Gene Expression Master Mix Protocol (PN 4371135)の「安全」のセクションを参照して下さい。すべての**赤い太字**の化学物質についてはMSDSを参照し、取扱説明書に従って下さい。適切な眼の保護具、保護服および保護手袋を着用して下さい。

遺伝子発現定量方法

このQuick Reference Cardは、TaqMan® Gene Expression Assays、およびTaqMan® Gene Expression Master Mixを使用する簡単な手順を提供します。リアルタイムPCR実行の詳細については、TaqMan® Gene Expression Master Mix Protocolを参照して下さい。

ステップ	アクション																																					
1	PCR反応液の調製	<p>a. 使用前にボトルを旋回させることによって、TaqMan Gene Expression Master Mixを完全に混和します。</p> <p>b. 反応数に基づき、各実験において必要なコンポーネントの量を算出します。ピペッティングにより生じる損失を補填するため余分量(10%程度)を含めて下さい。 注記: アプライドバイオシステムズは、各サンプルを4反復で測定することを推奨しています。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="3">コンポーネント</th> <th colspan="4">用量†(μL)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">50-μL反応 (Standard 96-Well Plate Setup)</th> <th colspan="2">20-μL反応 (384-Well Plate or 96- or 48-Well Fast Plate Setup)</th> </tr> <tr> <th>1ウェル分</th> <th>4ウェル分</th> <th>1ウェル分</th> <th>4ウェル分</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="color: red;">TaqMan Gene Expression Master Mix (2X)</td> <td>25.0</td> <td>125.0</td> <td>10.0</td> <td>50.0</td> </tr> <tr> <td style="color: red;">TaqMan Gene Expression Assay (20X)‡</td> <td>2.5</td> <td>12.5</td> <td>1.0</td> <td>5.0</td> </tr> <tr> <td>cDNA template + H₂O††</td> <td>22.5</td> <td>112.5</td> <td>9.0</td> <td>45.0</td> </tr> <tr> <td>Total Volume</td> <td>50.0</td> <td>250.0</td> <td>20.0</td> <td>100.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>† マルチプレックス反応の用量については、TaqMan® Gene Expression Master Mix Protocol (PN 4371135)を参照して下さい。</p> <p>‡ 分注時のロス considering 余分量を加えてください。</p> <p>§ TaqMan Gene Expression Assay 情報についてはwww.allgenes.comを参照して下さい。</p> <p>†† TaqMan Gene Expression Assaysの最適なパフォーマンスを得るために、20または50-μL反応あたり10~100ngのcDNAを使用して下さい。</p> <p>c. チューブのキャップを閉めます。</p> <p>d. 溶液を軽く混合するようにチューブをボルテックスで浸盪します。</p> <p>e. 軽くチューブを遠心し、溶液から気泡を取り除きます。</p>				コンポーネント	用量†(μL)				50-μL反応 (Standard 96-Well Plate Setup)		20-μL反応 (384-Well Plate or 96- or 48-Well Fast Plate Setup)		1ウェル分	4ウェル分	1ウェル分	4ウェル分	TaqMan Gene Expression Master Mix (2X)	25.0	125.0	10.0	50.0	TaqMan Gene Expression Assay (20X)‡	2.5	12.5	1.0	5.0	cDNA template + H ₂ O††	22.5	112.5	9.0	45.0	Total Volume	50.0	250.0	20.0	100.0
コンポーネント	用量†(μL)																																					
	50-μL反応 (Standard 96-Well Plate Setup)		20-μL反応 (384-Well Plate or 96- or 48-Well Fast Plate Setup)																																			
	1ウェル分	4ウェル分	1ウェル分	4ウェル分																																		
TaqMan Gene Expression Master Mix (2X)	25.0	125.0	10.0	50.0																																		
TaqMan Gene Expression Assay (20X)‡	2.5	12.5	1.0	5.0																																		
cDNA template + H ₂ O††	22.5	112.5	9.0	45.0																																		
Total Volume	50.0	250.0	20.0	100.0																																		

ステップ	アクション																				
2	PCR反応プレートの準備	<p>a. 適切な量の反応液を必要なプレートの各ウェルへ移します:</p> <ul style="list-style-type: none"> • MicroAmp™ Fast Optical 48-Well Reaction Plate: 20µL / ウェル • MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate: 50µL / ウェル • MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate: 20 µL / ウェル • MicroAmp™ Optical 384-Well Reaction Plate: 20 µL / ウェル <p>b. MicroAmp™ Optical Adhesive Filmでプレートをシールします。MicroAmp™ 96-Well Reaction Platesについては、MicroAmp Optical Capsの使用も可能です。</p> <p>重要! ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System、または7900HT Fast Real-Time PCR Systemで、MicroAmp™ 96-Well Reaction PlateをOptical Adhesive Filmで使用する場合、MicroAmp Optical Film Compression Padを使用して下さい。</p> <p>c. プレートを軽く遠心します。</p>																			
3	PCR反応の実行	<p>a. PCR条件を以下のように設定します:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>ステップ</th> <th>温度 (°C)</th> <th>時間</th> <th>サイクル</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>UDG Incubation</td> <td>50</td> <td>2 min</td> <td>HOLD</td> </tr> <tr> <td>AmpliTaq Gold®, UP Enzyme Activation</td> <td>95</td> <td>10 min</td> <td>HOLD</td> </tr> <tr> <td>Denature</td> <td>95</td> <td>15 sec</td> <td rowspan="2">40</td> </tr> <tr> <td>Anneal/Extend</td> <td>60</td> <td>1 min</td> </tr> </tbody> </table> <p>b. プレートセットアップにおいてStandardモードを選択し、正しい反応液量(20 µLまたは50 µL)を入力します。</p> <p>重要! Fast モードはTaqMan Gene Expression Master Mixには使用できません。詳細はTaqMan® Gene Expression Master Mix Protocolを参照して下さい。</p>	ステップ	温度 (°C)	時間	サイクル	UDG Incubation	50	2 min	HOLD	AmpliTaq Gold®, UP Enzyme Activation	95	10 min	HOLD	Denature	95	15 sec	40	Anneal/Extend	60	1 min
ステップ	温度 (°C)	時間	サイクル																		
UDG Incubation	50	2 min	HOLD																		
AmpliTaq Gold®, UP Enzyme Activation	95	10 min	HOLD																		
Denature	95	15 sec	40																		
Anneal/Extend	60	1 min																			
4	結果解析	<p>データ解析方法は使用機種によって異なります。解析方法の詳細につきましてはTaqMan® Gene Expression Master Mix Protocol (PN 4371135) および機器のユーザーガイドを参照して下さい。</p>																			

TaqMan Gene Expression Master Mix Products

項目	部品番号	内容	項目	部品番号	内容
Mini-Pack	4370048	1 X 1 mL tube (40 X 50µL reactions)	5-Pack	4369510	5 X 5 mL bottles (1000 X 50 µL reactions)
1-Pack	4369016	1 X 5 mL bottle (200 X 50 µL reactions)	10-Pack	4369542	10 X 5 mL bottles (2000 X 50 µL reactions)
2-Pack	4369514	2 X 5 mL bottles (400 X 50 µL reactions)	Bulk Pack	4370074	1 X 50 mL bottle (2000 X 50 µL reactions)

© Copyright 2007, Applied Biosystems. All rights reserved.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

NOTICE TO PURCHASER: PLEASE REFER TO the *TaqMan® Gene Expression Master Mix Protocol* (PN 4371135) FOR LIMITED LABEL LICENSE OR DISCLAIMER INFORMATION.

Applied Biosystems, AB (Design), Applera, and ABI PRISM are registered trademarks of Applera Corporation or its subsidiaries in the U.S. and/or certain other countries. AmpliTaq Gold and TaqMan are registered trademarks of Roche Molecular Systems, Inc. All other trademarks are the sole property of their respective owners.

02/2007

