



実験コストを大幅カット!

# リアルタイムPCR関連製品



**RNA抽出** から **リアルタイムPCR** までのラインナップをご紹介します!

ニッポンジーンでは、リアルタイムPCRに必要な「RNA抽出キット」、「cDNA合成キット」、「リアルタイムPCR試薬」をラインアップしています。オリジナルプロトコールや高性能な酵素を組み合わせた製品を安価に提供します。

## Step 1 RNA抽出

■ ISOSPIN Cell & Tissue RNA <動物組織・細胞用>

50回用 ... ¥30,000 ¥600/検体 (DNase I 添付)

■ ISOSPIN Plant RNA <植物組織用>

50回用 ... ¥36,000 ¥720/検体 (DNase I 添付)



前処理カラム不要のオリジナルプロトコールにより高収量・高純度

## Step 2 cDNA合成

■ GeneAce cDNA Synthesis Kit <cDNA合成キット>

50回用 ... ¥33,000 ¥660/反応 (RNase H 添付)



- ・ RNase H処理によりRT-PCRの効率を向上
- ・ 長鎖のcDNA合成効率を向上

## Step 3 リアルタイムPCR

■ GeneAce SYBR™ qPCR Mix II <SYBR™ Green I 検出系>

500反応用 ... ¥24,000 ¥48/反応 (20 µl反応系)

■ GeneAce Probe qPCR Mix II <蛍光標識プローブ検出系>

200反応用 ... ¥24,000 ¥120/反応 (50 µl反応系)



- ・ 非特異増幅を抑制 (SYBR™)
- ・ SNPジェノタイピング実験にも最適 (Probe)

表示価格は希望納入価格 (税別) です。(2024年4月更新)

製造元 株式会社ニッポンジーン

〒930-0834 富山市問屋町二丁目7番18号  
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547  
URL: <https://www.nippongene.com/>

販売元 富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)  
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

## Step 1 RNA抽出

ISOSPIN Cell & Tissue RNA 動物組織・細胞用



ISOSPIN Plant RNA 植物組織用



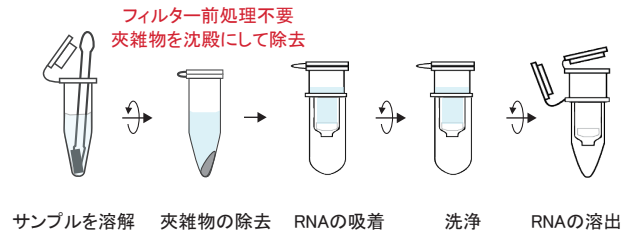
【補助試薬】 Assist Buffer for ISOSPIN Plant RNA 抽出困難な植物試料に

スピнкаラムを用いて、動物組織・細胞/植物組織からRNAを抽出・精製するためのキットです。

### 特長

- 多糖類を含む試料からも高純度なRNAを抽出可能
- フィルターによる前処理が不要
- DNase I はキットに添付(別途購入不要)
- フェノール、クロロホルムは不要
- 抽出困難な植物試料には、専用補助試薬(別売)を組み合わせて改善

### 簡易操作フロー



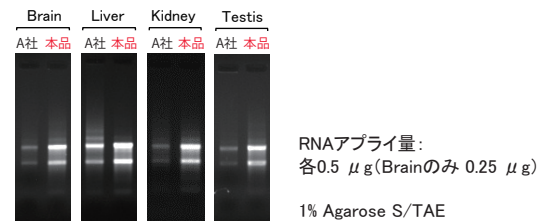
### 実験例：マウス各種組織からのRNA抽出 < ISOSPIN Cell & Tissue RNA >

10 mgのマウス各種組織から本品とA社製品を用いてRNAを抽出し、吸光度測定により収量と純度を比較した。吸光度で定量したRNA量を基に、アプライするRNA量をそろえて電気泳動を行った。

#### ① RNA収量と純度の比較

マウス組織	収量 (μg/mg)		純度 (A260/A230)	
	A社	本品	A社	本品
脳	0.16	0.91	1.01	1.94
肝臓	1.59	3.59	1.87	2.22
腎臓	0.44	3.07	1.59	2.25
精巣	0.41	1.47	1.80	2.25

#### ② 電気泳動による比較

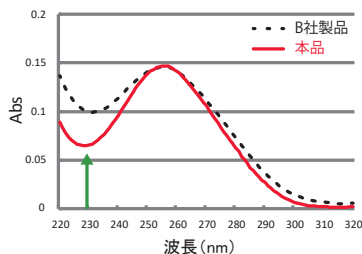


**結果** 吸光度測定より、本品はA社製品よりも収量および純度が高いRNAを抽出できていることが示唆された。また、電気泳動でも明瞭な rRNA のバンドが確認できた。

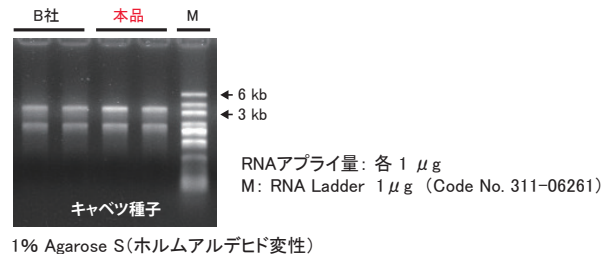
### 実験例：キャベツ種子からのRNA抽出 < ISOSPIN Plant RNA >

約4 mgのキャベツ種子から本品とB社製品を用いてRNAを抽出し、吸光スペクトルを測定した。吸光度で定量したRNA量を基に、アプライするRNA量をそろえて電気泳動を行った。

#### ① 吸光スペクトル測定による比較



#### ② 電気泳動による比較



**結果** 本品は、B社製品より低いA230の値を示し、多糖類などの夾雑物が効率良く除去できていることが示唆された。電気泳動でも明瞭な rRNA のバンドが確認できた。

Code No.	製品名	用途	容量	希望納入価格(税別)
314-08211	ISOSPIN Cell & Tissue RNA	動物組織や培養細胞からのRNA抽出キット	50 回用	¥ 30,000
310-08171	ISOSPIN Plant RNA	植物組織からのRNA抽出キット	50 回用	¥ 36,000
315-08501	Assist Buffer for ISOSPIN Plant RNA	抽出困難な植物組織用(専用オプションバッファー)	50 回用	¥ 12,000

## Step 2 cDNA合成

### GeneAce cDNA Synthesis Kit 1st strand cDNA 合成キット

RNAを鋳型に1st strand cDNAを合成するためのキットです。逆転写反応後にRNase H処理を行うことにより、PCR阻害を引き起こす要因となり得る鋳型RNAを分解することができます。

#### 特長

- cDNA合成に必要な試薬が全てセット
- 改変型の逆転写酵素を採用しているため完全長cDNAの合成効率が向上
- RNase H処理によりRT-PCRの効率が向上
- 当社リアルタイムPCR試薬との組み合わせに最適

#### キット内容 (容量 50回用\*)

▶ GeneAce Reverse Transcriptase	50 $\mu$ L × 1本
▶ 5×RT Buffer	1 mL × 1本
▶ RNase Inhibitor	50 $\mu$ L × 1本
▶ 10 mM dNTP Mixture	50 $\mu$ L × 1本
▶ Oligo(dT)20 primer (50 $\mu$ M)	50 $\mu$ L × 1本
▶ Random hexamers (50 $\mu$ M)	50 $\mu$ L × 1本
▶ RNase H	50 $\mu$ L × 1本
▶ ddWater (RNase free)	1 mL × 2本

\* 1反応あたり20  $\mu$ L容量でcDNA合成反応を行った場合

#### 実験例：長鎖cDNA (約10 kb) の合成効率の比較

マウスFM3A細胞 total RNA (2  $\mu$ g) を鋳型に Oligo (dT) primer を使用してcDNAを合成した。得られたcDNAを鋳型にリアルタイムPCRを行い、Utrophin遺伝子のcDNA量を比較した。(プライマーは3'末端から約10 kb付近に設計)

リアルタイムPCR試薬: GeneAce SYBR® qPCR Mix  $\alpha$  Low ROX

検出対象: Utrophin遺伝子 (約10 kbp)

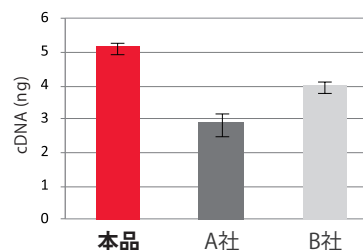


図1. cDNA合成量の比較

**結果** 本品は、他社製品よりも長鎖cDNAの合成効率が高いことが示された。

#### 実験例：RNase H 処理の効果検証

HeLa細胞 total RNA (2  $\mu$ g) を鋳型に、本キットを用いてcDNAを合成した。得られたcDNAを鋳型にして、RNase H処理の有無によるPCR効率の比較を行った。

RNase H処理あり(Lane +): RNase H 処理(37°C, 15分間)したcDNA(DNA一本鎖)を鋳型にしたPCR産物

RNase H処理なし(Lane -): 得られたcDNA(DNA-RNAヘテロ二本鎖)をそのまま鋳型にしたPCR産物

マーカー(Lane M): Gene Ladder Wide 1 (Code No. 313-06961)  
検出対象: EPAS1遺伝子一部領域(約2.6 kb)

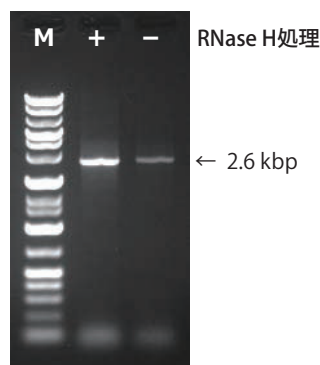


図2. PCR産物の電気泳動像

**結果** RNase H処理によりPCR効率が向上した。

Code No.	製品名	用途	容量	希望納入価格(税別)
319-08881	GeneAce cDNA Synthesis Kit	1st strand cDNA合成キット	50 回用	¥33,000

## Step 3 | リアルタイムPCR

GeneAce SYBR™ qPCR Mix II SYBR™ Green I 検出系

GeneAce Probe qPCR Mix II 蛍光標識プローブ検出系

リアルタイムPCR用マスターミックス(2×濃度)です。化学的な修飾を施されたホットスタートDNAポリメラーゼと最適化されたバッファーにより、非特異的増幅を抑制し、広範囲の鋳型濃度に対し精度の高い分析ができます。

### 特長

#### SYBR™ Green I 検出系

- 圧倒的コストパフォーマンス 48円/反応(20 µl反応系)
- 高い特異性と増幅効率
- UNG(別売)の添加でキャリーオーバー防止
- 各種リアルタイムPCR装置に対応(補正用色素添加済み)

### 特長

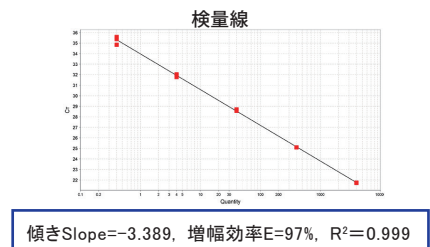
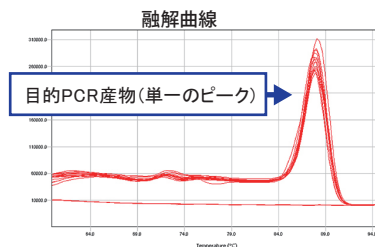
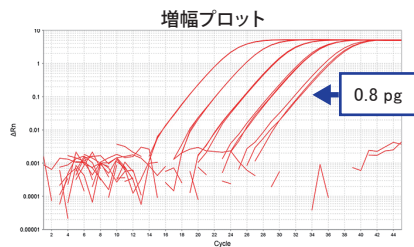
#### 蛍光標識プローブ検出系

- 圧倒的コストパフォーマンス 120円/反応(50 µl反応系)
- SNPジェノタイピング実験に使用可能
- UNG(別売)の添加でキャリーオーバー防止
- 各種リアルタイムPCR装置に対応(補正用色素添加済み)

### 実験例：GeneAce SYBR™ qPCR Mix II

ISOSPIN Cell & Tissue RNA(Code No. 314-08211)およびGeneAce cDNA Synthesis Kit(Code No. 319-08881)を用いて得られたマウス肝臓由来のcDNAの10倍段階希釈液(8 ng~0.8 pg RNAに相当)をテンプレートとし、本品を用いてβ-actin(増幅長 156 bp)の増幅を本キット推奨PCR条件で行った。

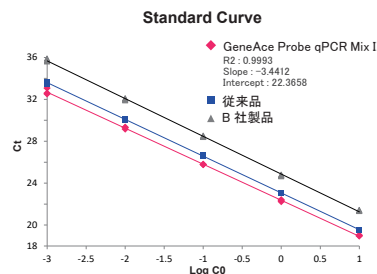
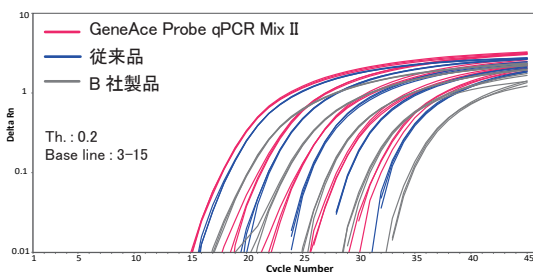
本キット推奨PCR条件: 95°C 10分 → (95°C 5秒, 60°C 1分) × 45サイクル → 融解曲線解析



**結果** 本品では各濃度のテンプレートで増幅が起こり、融解曲線で単一のピークが得られました。

### 実験例：GeneAce Probe qPCR Mix II と他社製品の比較

ISOSPIN Cell & Tissue RNA(Code No. 314-08211)を用いてHeLa細胞から抽出したTotal RNAから、GeneAce cDNA Synthesis Kit(Code No. 319-08881)を使用してcDNAを合成し、従来品(GeneAce Probe qPCR Mix α Low ROX)及びB社製品と増幅効率を比較した。



[ 鋳 型 ] : cDNA の段階希釈 (RNA 相当量 : 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg)  
 [ PCR 条件 ] : 95°C 10 min → (95°C 30 sec, 60°C 1 min) × 45 cycles  
 [ 標的遺伝子 ] : β-actin 一部領域  
 [ 反応液量 ] : 25 µl  
 [ 装置 ] : ABI 7500

**結果** 本品は従来品、B社製品と比較して最も早い立ち上がりを示し、検量線もCt値のばらつきが少なく直線性の高い結果が得られた。

Code No.	製品名	用途	容量	希望納入価格(税別)
313-09423	GeneAce SYBR™ qPCR Mix II	SYBR™ Green I 検出系	500反応用(20 µl反応系)	¥ 24,000
313-08823	GeneAce Probe qPCR Mix II	蛍光標識プローブ検出系	200反応用(50 µl反応系)	¥ 24,000

[注意] SYBR™ は、Thermo Fisher Scientific 社の登録商標です。