

リアルタイム PCR 測定例ープレートの配置例を下記に示しましたので、参考にしてください。

サンプル X、Y、Z(cDNA)3 種類

内在性コントロール遺伝子 β アクチン (TaqMan)

ターゲット遺伝子 I、J、K、L、M、N、O (TaqMan) の 7 種類として説明します。

まずサンプルの希釈を行います。

X 4ul にミリ Q 水 76ul を加え攪拌(タッピング)、遠心、攪拌、遠心します。(20 倍希釈)
20 倍希釈溶液 40ul にミリ Q 水 40ul を加え攪拌、遠心、攪拌、遠心します。(40 倍希釈)
40 倍希釈溶液 40ul にミリ Q 水 40ul を加え攪拌、遠心、攪拌、遠心します。(80 倍希釈)
80 倍希釈溶液 40ul にミリ Q 水 40ul を加え攪拌、遠心、攪拌、遠心します。(160 倍希釈)
160 倍希釈溶液を 1 列に 4ul ずつ分注します。次に 80 倍希釈溶液を 2 列に 4ul ずつ分注します。
同様に 40 倍希釈溶液を 3 列に 4ul ずつ分注し、20 倍希釈溶液を 4 列に 4ul ずつ分注します。

次に Y の希釈を行います。X と同様に 20 倍希釈、40 倍希釈、80 倍希釈、160 倍希釈溶液を作り、160 倍希釈溶液を 5 列に、80 倍希釈溶液を 6 列に、40 倍希釈溶液を 7 列に、20 倍希釈溶液を 8 列にそれぞれ 4ul ずつ分注します。Z も同様に 160 倍希釈溶液を 9 列に、80 倍希釈溶液を 10 列に、40 倍希釈溶液を 11 列に、20 倍希釈溶液を 12 列に 4ul ずつ分注します。

次に TaqMan 用の 2 × マスターミックス 65ul に β アクチン (TaqMan) とミリ Q 水を 6.5ul ずつ加えてミクスチャーを作り、攪拌後 A の行に 6ul ずつ加えます。

TaqMan 用の 2 × マスターミックス 65ul に I (TaqMan) とミリ Q 水を 6.5ul ずつ加えてミクスチャーを作り、B の行に 6ul ずつ加えます。同様に J のミクスチャーを C の行に、K を D、L を E、M を F、N を G、O を H の行にそれぞれ 6ul ずつ加えます。

軽く攪拌遠心後、シールを貼って測定します。

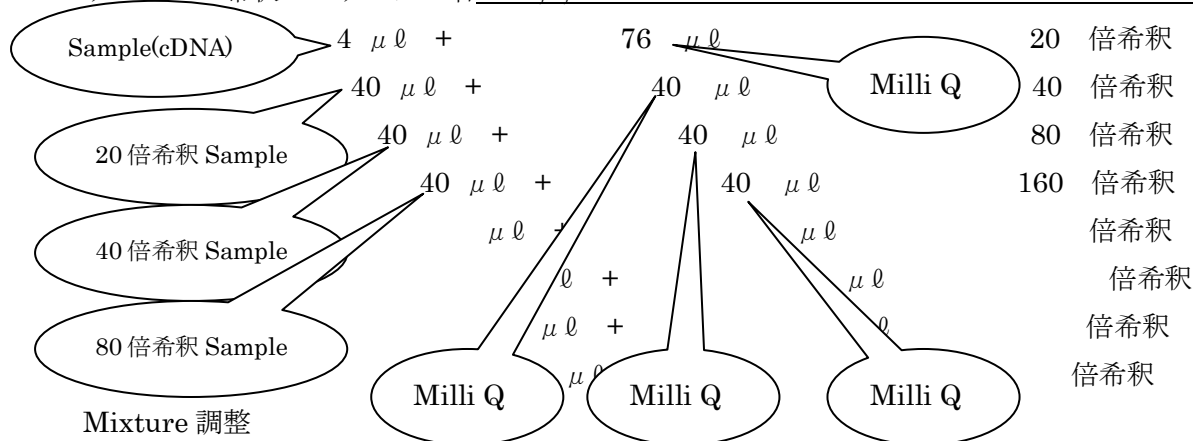
測定条件：Fast モードの場合はアニーリングを 62℃にした方が良い結果が得られるようです。

解析例は EXEL ファイルで示します。

ABI Real Time PCR

/ /

サンプルの希釈 サンプル名 X,Y,Z



β アクチン, I, J, K, L, M, N, O 13 本分

Master Mix 5 µl 65 µl }
 Primer/Probe 0.5 µl 6.5 µl } 6 µl
 MilliQ 0.5 µl 6.5 µl } /Tube
 Template 4 µl

	β アクチン	遺伝子 I	遺伝子 J	遺伝子 K	Sample X		Sample Y		Sample Z			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X(*20)	X(*20)	X(*20)	X(*20)								
B	X(*40)	X(*40)	X(*40)	X(*40)								
C	X(*80)	X(*80)	X(*80)	X(*80)								
D	X(*160)	X(*160)	X(*160)	X(*160)								
E	X(*20)	X(*20)	X(*20)	X(*20)								
F	X(*40)	X(*40)	X(*40)	X(*40)								
G	X(*80)	X(*80)	X(*80)	X(*80)								
H	X(*160)	X(*160)	X(*160)	X(*160)								