

# TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix II

注記: 安全およびバイオハザード指針については、TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix II Protocol (PN 4428173)の「安全」セクションを参照して下さい。すべて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。

TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix IIは、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)を実施するのに必要な成分(Primer、probe、template および Waterを除く)を含む便利なMix溶液です。以下のプロトコルでは、TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix IIおよびTaqMan<sup>®</sup> assaysを使用した、リアルタイムPCR定量実験について説明します。他のアプリケーションのための調製方法については、TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix II Protocol (PN 4428173)を参照して下さい。

- 1 試薬の融解および混合**
- 必要に応じて、TaqMan<sup>®</sup> Assayを氷上で融解します。
  - TaqMan<sup>®</sup> Assayを完全に融解させた後、静かにボルテックスしてから軽く遠心します。TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix IIは静かに転倒混和します。

- 2 反応数の計算**
- 実験するサンプル数および反応組成に基づいて、必要となる反応数を計算します。

**注記:** アプライドバイオシステムズは、各サンプルについて4反復で実験することを推奨しています。

- 3 PCR反応液の調製**
- サンプルごとに、滅菌済みの1.5-または2mlマイクロチューブを用意します。各サンプルの反復数に応じて以下試薬を分注します。

**注記:** アプライドバイオシステムズは、分注時のロスを考慮するために必要量の110%分を作成することを推奨しています。

PCR反応混合成分	反応(μL)あたりの用量		最終濃度
	50-μL 反応.	20-μL 反応.	
TaqMan <sup>®</sup> Universal Master Mix II, with/no UNG, 2X	25.0	10.0	1X
TaqMan <sup>®</sup> Assay, 20X	2.5	1.0	1X
cDNA or DNA template + RNase-free water <sup>†</sup>	22.5	9.0	1~100 ng
<b>Total Volume</b>	<b>50.0</b>	<b>20.0</b>	—

<sup>†</sup> 反応あたり1~100 ngのcDNAテンプレートをRNase-free waterで希釈し、正確な量を加えます。

- チューブのキャップを閉め、数回転倒混和します。
- チューブを簡単に遠心します。

- 4 反応プレートの準備**
- 96ウェルリアクションプレートの各ウェルに、PCR反応液を50μLずつ分注します。

**注記:** 384ウェルブロックでリアルタイムPCRシステムを使用している場合、各ウェルに20μLずつ分注します。

- 適切なカバーを使用して、プレートにシールします。
- プレートを簡単に遠心します。
- リアルタイムPCRシステムにプレートをセットします。

**重要!** プレートセットアップから2時間以内に反応を開始してください。開始できない場合、プレートを冷蔵してください。

## 5 ラン開始

a. 以下のパラメーターを使用した実験ファイルを作成します。

システム	UNG インキュベーション <sup>†</sup>	Polymeraseの活性化	PCR	
	HOLD	HOLD	サイクル (40サイクル)	
			Denature	Anneal/Extend
温度(°C)	50	95	95	60
時間(mm : ss)	2:00	10:00	00:15	1:00
反応体積 (μL)	50または20			

<sup>†</sup> Uracil-N-Glycosylase (UNG) 活性に必要なステージです。UNGが反応中に含まれない場合は不要です。

b. ランを開始します。

## 6 結果解析

データの分析のために:

- ・ プレート全体の増幅プロットを確認します。
- ・ Base line およびThreshold line を設定します。
- ・ 検量線法または比較C<sub>T</sub>法によりデータ解析をします。

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、ご使用機種の取扱説明書を参照して下さい。

## Ordering Information

TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix II (with UNGもしくはno UNG)は2X濃度で供給され、以下の表にリストされている規格で入手可能です。TaqMan<sup>®</sup> Universal Master Mix II,または関連するTaqMan<sup>®</sup> reagentとassaysの注文は以下サイトを参照して下さい:  
www.appliedbiosystems.com

製品	項目	量	50-μLの反応	部品番号
TaqMan <sup>®</sup> Universal Master Mix II, with UNG Includes: • AmpliTaq Gold <sup>®</sup> DNA Polymerase, UP (UltraPure) • Uracil-N-Glycosylase (UNG) • dNTPs with dUTP • Passive Reference 1 • Optimized buffer components	Mini-Pack	1 × 1-mL tube	40	4440042
	1-Pack	1 × 5-mL bottle	200	4440038
	2-Pack	2 × 5-mL bottles	400	4440044
	5-Pack	5 × 5-mL bottles	1000	4440045
	10-Pack	10 × 5-mL bottles	2000	4440046
	Bulk-Pack	1 × 50-mL bottle	2000	4440039
TaqMan <sup>®</sup> Universal Master Mix II, without UNG Includes: • AmpliTaq Gold <sup>®</sup> DNA Polymerase, UP (UltraPure) • dNTPs with dUTP • Passive Reference 1 • Optimized buffer components	Mini-Pack	1 × 1-mL tube	40	4440043
	1-Pack	1 × 5-mL bottle	200	4440040
	2-Pack	2 × 5-mL bottles	400	4440047
	5-Pack	5 × 5-mL bottles	1000	4440048
	10-Pack	10 × 5-mL bottles	2000	4440049
	Bulk-Pack	1 × 50-mL bottle	2000	4440041

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

NOTICE TO PURCHASER: PLEASE REFER TO THE TAQMAN<sup>®</sup> UNIVERSAL MASTER MIX II PROTOCOL FOR LIMITED LABEL LICENSE OR DISCLAIMER INFORMATION.

© 2009, Life Technologies Corporation. All rights reserved. Trademarks of Life Technologies Corporation and its affiliated companies: AB<sup>®</sup> (Design), Applied Biosystems<sup>®</sup>. TaqMan and AmpliTaq Gold are registered trademarks of Roche Molecular システムズ, Inc. All other trademarks are the sole property of their respective owners.

07/2009

