

Real Time PCR

試薬：Go Taq qPCR Master Mix

Mix

DW 4 μ l

CRX 0.1 μ l

Primer F 0.2 μ l

Primer R 0.2 μ l

Mix 4.5 μ l、GoTaq 5 μ l、cDNA 0.5 μ l ずつを各チューブに入れる

(チューブには直接手を触れないこと。手袋着用)

↓

PC、Real Time PCR System の起動

↓

7300 Soft Ware を起動

↓

Create New Document

↓

Finish

↓

Well のどこか一か所を右クリック

↓

Well Inspector

↓

Add Detector

↓

SYB-1

↓

Done

↓

使用する箇所をドラッグ

↓

Well Inspector

↓

SYB-1 にチェック

↓

Close



使用しない箇所をドラッグ



Well Inspector



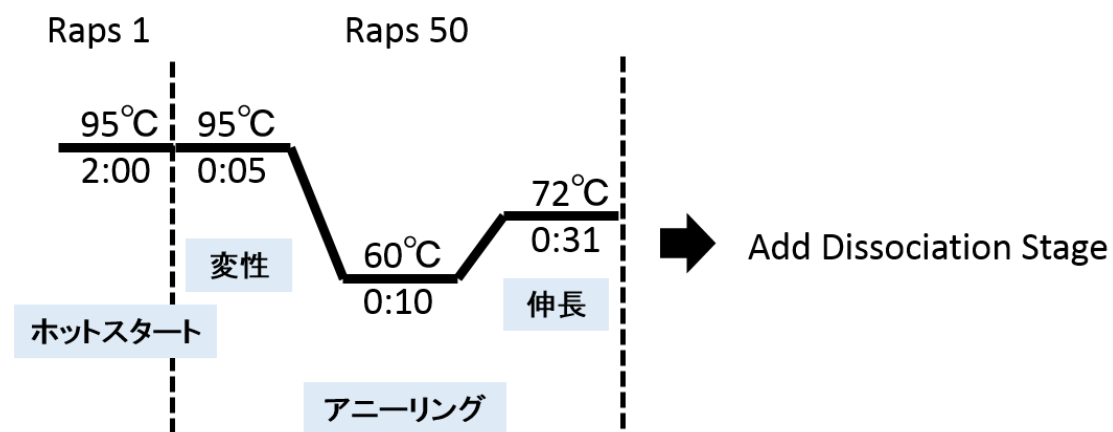
Omit Well にチェック



Close



Instrument で PCR 条件を設定する (アニーリング温度は T_m 値によって変更可)



Sample Volume 10 µl

Data Collection 72°C 0:31

を設定



File



Save



サンプルをセットし Start



終了時間が表示されるので確認

相対発現量を示すには

$1 / 2^{(\text{目的遺伝子の Ct 値} - \text{コントロールの Ct 値})}$

プライマーチェック（検量線の作成）

x 軸を相対濃度の log に、y 軸を Ct 値にしてプロット

↓

近似線を引き、傾きを算出する

↓

PCR 効率（%）

$$= [10^{(-1 / \text{傾き})} - 1] \times 100$$