

取扱説明書

< TER_00001 >

【使用目的】

・ヒト DNA 中の *TERT* promoter 遺伝子変異 C228T (Chr5:1295228 on hg19) を、本品とデジタル PCR 装置を用いて検出します。

【内容について】

当該の変異の検出に対応した下記 4 種類のオリゴヌクレオチドを乾燥したものです。

- ・フォワードプライマー TER_F00001
- ・リバープライマー TER_R00001
- ・ワイルドタイプ DNA 検出用プローブ (HEX 標識) TER_W00001
- ・ミュータントタイプ DNA 検出用プローブ (FAM 標識) TER_m00001

【使用にあたり準備する物品・機材】

- ・DNase/RNase-free distilled water
- ・7-deaza-dGTP
- ・Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
- ・マイクロピペット等の実験器具
- ・デジタル PCR システムと、その消耗品

動作確認済装置は、Bio-Rad 社製 QX200 Droplet Digital PCR system, および Thermo Fisher Scientific 社製 QuantStudio Absolute Q Digital PCR system です。Thermo Fisher Scientific 社製 QuantStudio 3D では使用できません。

【使用準備】

以下いずれかの方法でお使いいただけます。

方法 1. (すべて使い切る場合) プライマー・プローブ 4 本いずれかのチューブに、DNase/RNase-free distilled water を $10\ \mu\text{L}$ 入れ、チューブの底部・壁部に付着しているプライマー (透明) あるいはプローブ (赤紫色) を溶解してください。得られた $10\ \mu\text{L}$ 溶液を残りのチューブに全て移していき、プライマー・プローブを混合します。

方法 2. (一部保存しながら使用する場合) プライマー・プローブ 4 本それぞれに DNase/RNase-free distilled water を $2.5\ \mu\text{L}$ 入れ、チューブの底部・壁部に付着しているプライマー (透明) あるいはプローブ (赤紫色) を溶解してください。**使用の直前に** プライマー・プローブ溶液を等量混合します。

OTS-Probes

【輸送方法と保管方法】

乾燥状態では常温で輸送することができます。受領後は直ちに冷凍庫へ移してください。長期保管する際は、乾燥状態では -80°C 、水で溶かした後は -20°C で保管してください。いずれの条件でも遮光してください。

【使用期限】

未開封であっても1年以内にご使用ください。水に溶かしてからはいずれのプライマー・プローブとも未混合である場合に限り冷凍での保管が可能ですが、3か月以内の使い切りを推奨します。融解・凍結はある程度繰り返しても問題ありませんが、融解した場合にはボルテックス等でよく攪拌してからご使用ください。プライマー・プローブを混合した場合は、12時間以内に使い切ってください。

【実施例】

<QX200 PCR reaction setup 1>

ddPCR Supermix for Probes (No dUTP)	10 μL
4 mM 7-deaza dGTP (Final: 100 μM)	0.5 μL
30% DMSO (Final: 0.75%)	0.5 μL
OTS-Probes	2 μL
Template + Water	7 μL
Total	20 μL

<QX200 PCR reaction setup 2>

ddPCR Multiplex Supermix	5 μL
4 mM 7-deaza dGTP (Final: 100 μM)	0.5 μL
30% DMSO (Final: 0.75%)	0.5 μL
OTS-Probes	2 μL
Template + Water	12 μL
Total	20 μL

<QuantStudio Absolute Q PCR reaction setup>

QuantStudio 3D Digital PCR Master Mix v2	5 μL
4 mM 7-deaza dGTP (Final: 100 μM)	0.25 μL
30% DMSO (Final: 0.75%)	0.25 μL
OTS-Probes	1 μL
Template + Water	3.5 μL
Total	10 μL

<QX200 cyclers conditions>

Step	Temperature	Time	Cycle
1	95°C	10 min	1
2	94°C	30 sec	40
3	60°C	1 min	
4	98°C	10 min	1
5	4°C	∞	1

<QuantStudio Absolute Q cyclers conditions>

Step	Temperature	Time	Cycle
1	96°C	10 min	1
2	96°C	5 sec	40
3	60°C	30 sec	

注1：本品は10 μL 入りのため、QX200では3~4アッセイ、QuantStudio Absolute Qでは7~8アッセイ程度の実施が可能です。

注2：本製品は、添加薬剤としてDMSOと7-deaza dGTPを使用します。他のOTS-Probesとは異なりますのでご注意ください。

OTS-Probes

注3 : QuantStudio Absolute Q で本 OTS-Probes を使用する際には、Master Mix は QuantStudio 3D Digital PCR Master Mix v2 を使用してください。QuantStudio 3D の dPCR 機材は使用できません。

注4 : QX200 では、Setup 2 の Bio-Rad ddPCR Multiplex Supermix の使用を推奨します。同 Setup の方がプライマー・プローブの非特異的な結合が抑えられる傾向があります。

【使用上の注意】

- ・本品は研究用試薬です。それ以外の用途には使用しないでください。
- ・本文書以外の使用方法に関しては動作保証をしかねます。
- ・作業環境、使用機器、操作上のコンタミネーションにご注意ください。

【OTS-Probes 以外の試薬の使用上の注意】

- ・ OTS-Probes 以外の試薬については別途ご購入が必要です。
- ・ OTS-Probes 以外の試薬については試薬メーカーが汎用的に販売しているものであり、OTS-Probe のために開発されたものではなく、マニュアルの記載にかかわらず、試薬メーカーは OTS-Probe における動作保証をするものではありません。
- ・ OTS-Probes 以外の試薬自体の品質について、株式会社クオントディテクトが責任を負うものではなく、また、試薬自体については試薬メーカーが定める使用方法を遵守してご使用ください。

【お問い合わせ先】

株式会社クオントディテクト

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-2 東京サンケイビル 27 階

TEL : 03-3242-3146 / FAX : 019-601-2341

MAIL : techsupport@quantdetect.com

『OTS-Probes』は岩手医科大学医歯薬研究所が開発し特許化した技術の移転を受け、株式会社クオントディテクトが開発・製造したものです。