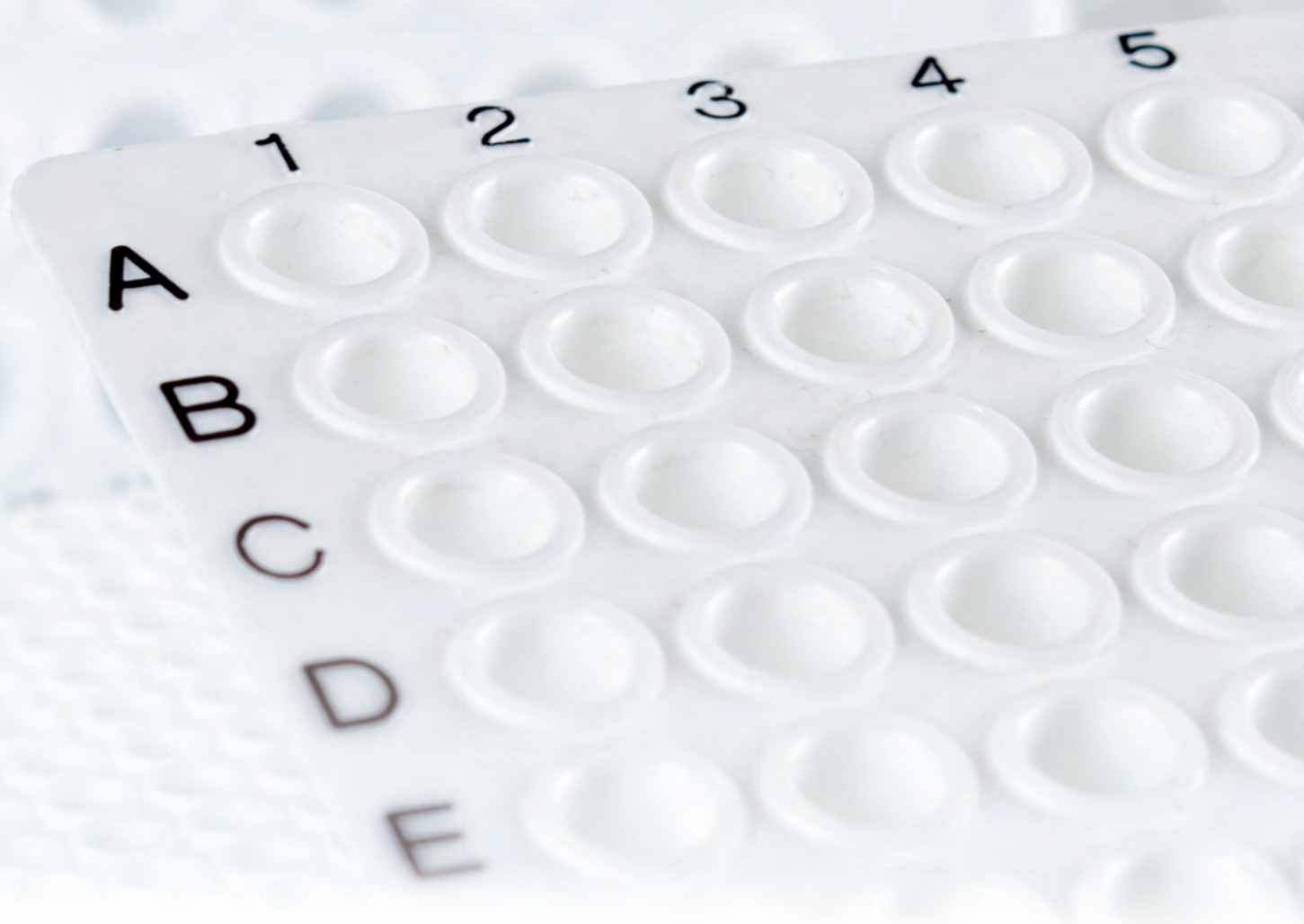


# 今月のヒント

より精度の高いリアルタイムPCR用の白色チューブ

再現性のさらなる向上 - 高感度 - クロストーク防止



# より精度の高いリアルタイムPCR用の白色チューブ

リアルタイムPCR (qPCR)等の蛍光性を応用したアプリケーション-特に微量アプリケーションの場合には、反射特性を向上させる白色PCR製品の使用が推奨されています。にもかかわらず、qPCRを透明なチューブが使われるのが一般的でした。qPCRを改善する方法をご紹介します

## 白色チューブを利用することで再現性に得られる効果を教えてください?

白色タイプは蛍光反射性が向上します。一つには蛍光ライトがウェルの壁を通して損失しないこと、もう一つのメリットは、検出器に到達する蛍光量が透明製品と比べて一定しています。よってデュプリケイト、トリプリケイトの検出や複数回の実験においても分散することが減ります。。



比較した透明および白色PCRプレート

## 信号/バックグラウンド比が改善するのはなぜですか?

白色PCR製品は蛍光レベルが格段に高く、使用される蛍光物質の一貫したバックグラウンド効果も加わって、白いPCRチューブ内で検出されるシグナル/バックグラウンド比が改善します。

## ウェル間の「クロストーク」を防止できますか?

透明のチューブを使用すると、蛍光分散により隣接ウェルで蛍光が検出されることがあります。白色PCR製品の場合は不透光性の材質を使用しているため、サーモサイクラーの蛍光検出器が隣接ウェルの蛍光シグナルを検出しません。

## 白いタイプのPCR製品を使用するとPCRの感度はどのように変化しますか?

下記はqPCR実験を取り上げた説明です。図1に示す検査結果からわかる通り、測定した蛍光強度は同じ鑄型数の場合、白いタイプの製品のほうが透明の製品よりはるかに高くなります。図1では透明、または白色PCRストリップはサーマルサイクラーによって自動的に閾値に達しています。透明タイプの1,000個の分子鑄型検出においては平均Cq値(n = 8)  $24.87 \pm 0.08$ 、白いタイプではCq値  $23.40 \pm 0.07$  を得ました。これは白いタイプのほうが早く検出できることを表しています。このことから、微量のサンプルしかない場合には特に有益であることがわかります。従って白いタイプの製品を使用することで、透明タイプでは不可能であった検出が可能になります

# より精度の高いリアルタイムPCR用の白色チューブ

## 白色と透明の蛍光特性比較

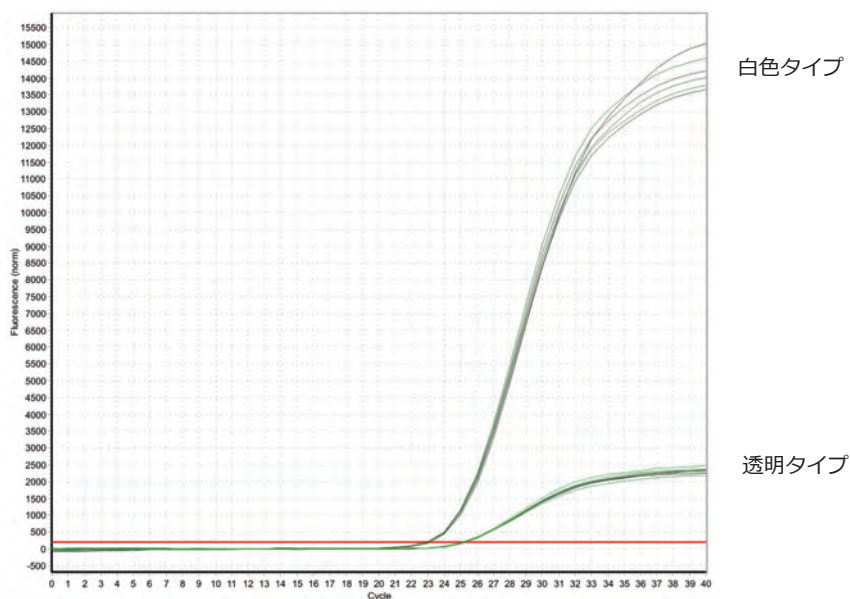


図1 PCRストリップ72.985.002 (透明)と72.985.092(白色)のPCRランをそれぞれカバーストリップ (透明) 65.989.002。でフタをして比較。EmGFPプラスミド(鋳型量1,000分子)の断片100 bpを分量20  $\mu$ lでEppendorf realplex 4Sサーモサイクラー(n = 8)を用いてPCRした。

## 検査用試薬を削減するのは可能でしょうか？

白色PCR製品は何倍も高い蛍光レベルを実現できるので、検査時に必要な試薬（酵素、サンプル、プライマー等）の量を大幅に削減できます。こうして試薬コストを節約できます。

**終わりに：**ウェルの目視確認が側面、底面からでも可能です。白色PCR製品を使用することで得られる数限りないメリットがあります。

