

# 迅速PCR測定例(肉団子)



**試料** 鶏肉団子0.1g、純水1gの比で混ぜた懸濁液  
**前処理** 5分程度煮沸後、煮汁を1mL採取し遠心分離10,000回転5分  
 チューブの中心付近から液を採取し①直接試薬と混合②100倍に薄めた

## 反応組成

コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg <sup>2+</sup>	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

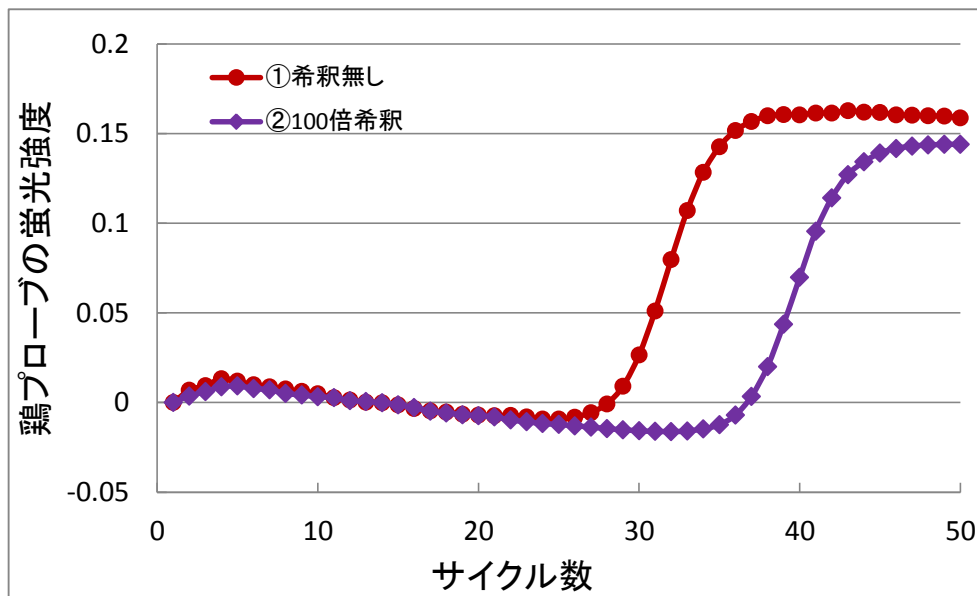
反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	30sec ※2	50cycle
変性	95°C	4sec	

※2)開発初期の反応条件であり、その後63°C-15秒で増幅する事が確認できている。  
 (技術資料参照)

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1  
 Chicken-Primer F 5'-TCTGGGCTTAACCTCTCATACTCACC-3' (25mer) T<sub>m</sub> 65.6  
 Chicken-Primer R 5'-GGTACTAGTGGGTTTGCTGGG-3' (22mer) T<sub>m</sub> 65.6  
 Chicken-probe 5'-Cy5-CATTCCCTAACACTAGCCCTATTCCTCC-3'BHQ3 (26mer) T<sub>m</sub> 70.3  
 T<sub>m</sub>値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 高速PCR測定例(中華スープ)



**試料前処理** 中華スープ(A社製)①0.02gまたは②0.01g、純水1gの比で混ぜた懸濁液  
 ボルテックスにて攪拌  
 チューブの中心付近から液を採取し①直接試薬と混合②100倍に薄めた

## 反応組成

コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg <sup>2+</sup>	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

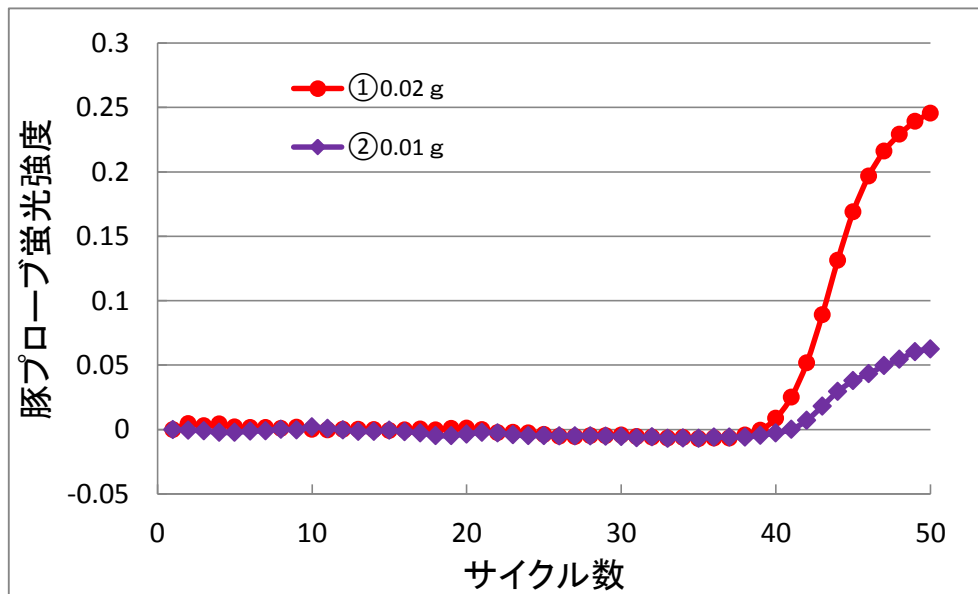
反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	30sec ※2	50cycle
変性	95°C	4sec	

※2) 開発初期の反応条件であり、その後63°C-15秒で増幅する事が確認できている。  
 (技術資料参照)

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※

Pig-Primer F	5'-CTTGCAAATCCTAACAGGCCTG-3' (22mer)	Tm 66.2
Pig-Primer R	5'-CGTTTGCATGTAGATAGCGAATAAC-3' (25mer)	65.0
Pig-probe	5'ROX-AACAGCTTTCTCATCAGTTACACACAT-3'BHQ2 (27mer)	70.2

Tm値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 迅速PCR測定例(鶏ガラスープ)



**試料前処理** 鶏ガラスープ(F社製)①0.01gまたは②0.001g、純水1gの比で混ぜた懸濁液  
ボルテックスにて5分攪拌、5分間放置(遠心なし)した

## 反応組成

コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg2+	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

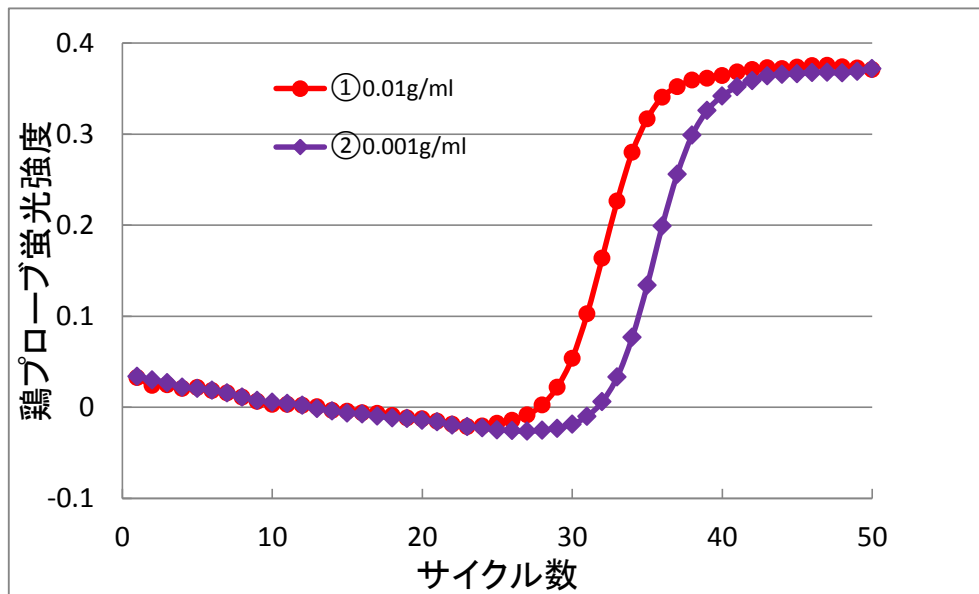
反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	30sec ※2	50cycle
変性	95°C	4sec	

※2) 開発初期の反応条件であり、その後63°C-15秒で増幅する事が確認できている。  
(技術資料参照)

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1

Chicken-Primer F	5'-TCTGGGCTTAACCTCTCATACTCACC-3' (25mer)	Tm 65.6
Chicken-Primer R	5'-GGTTACTAGTGGGTTTGCTGGG-3' (22mer)	Tm 65.6
Chicken-probe	5'-Cy5-CATTCCCTAACACTAGCCCTATTCTCC-3'BHQ3 (26mer)	Tm 70.3

Tm値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 高速PCR測定例(牛中華だし)



**試料前処理** 牛中華だし(Y社製)0.1gと純水1gの比で混ぜた懸濁液  
 ボルテックスにて30秒攪拌、5分間放置(遠心なし)  
 これを①10倍希釈、②100倍希釈、③1000倍希釈した

## 反応組成

コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg <sup>2+</sup>	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

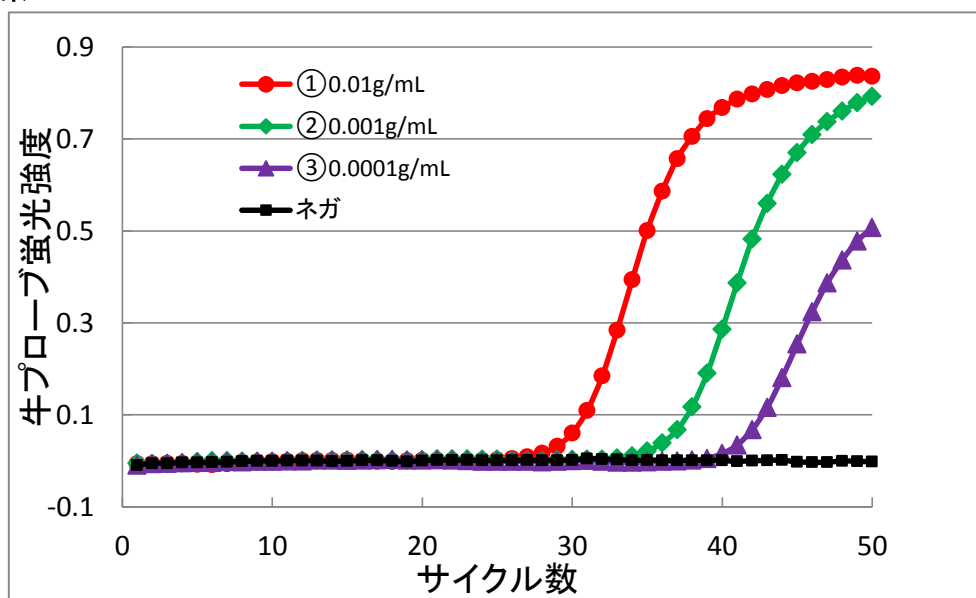
反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	30sec ※2	50cycle
変性	95°C	4sec	

※2) 開発初期の反応条件であり、その後63°C-15秒で増幅する事が確認できている。  
 (技術資料参照)

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1

Cow-Primer F	5'-CCCATTCTTCGCTTTCCAT-3' (20mer)	T <sub>m</sub> 66.8
Cow-Primer R	5'-CTACGTCTGAGGAAATTCCTGTTG-3' (24mer)	65.4
Cow-probe	5'FAM-CATCATAGCAATTGCCATAGTCCAC-3'BHQ1 (25mer)	72.9

T<sub>m</sub>値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 高速PCR測定例(まな板)



## 試料 前処理

豚生肉切断後のまな板(肉を取り除いた後)

①取り除いた状態②水で洗浄した状態③洗剤で洗浄したのち乾燥させた状態

上記各々の30mm角の領域を綿棒でこすり、この綿棒を0.1gの純水に漬けて抽出  
1万回転\*5分の遠心後中心付近の液を10倍希釈した

## 反応組成

コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛、豚、鶏)	各 600	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg <sup>2+</sup>	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

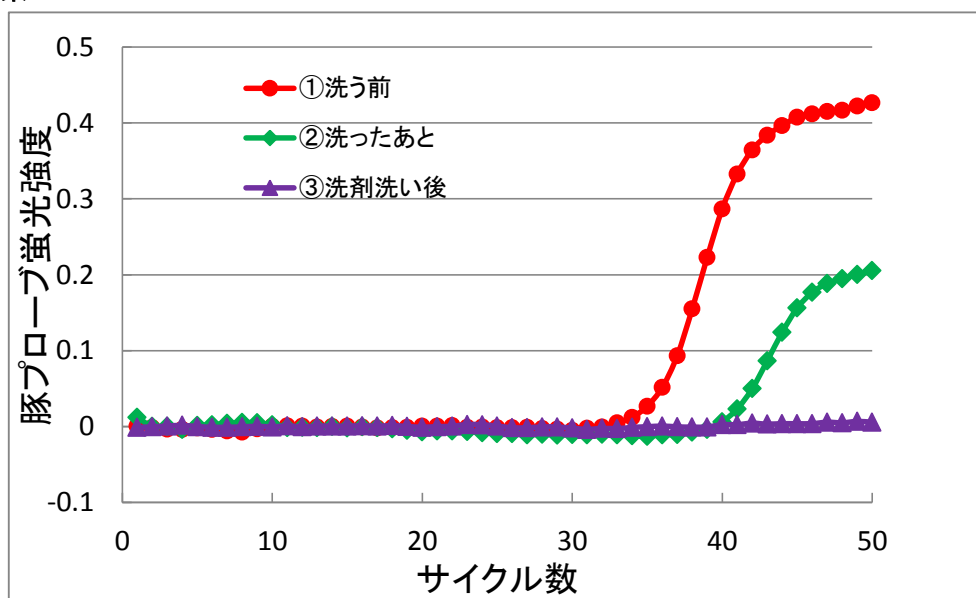
反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	30sec ※2	50cycle
変性	95°C	4sec	

※2) 開発初期の反応条件であり、その後63°C-15秒で増幅する事が確認できている。  
(技術資料参照)

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1

Pig-Primer F 5'-CTTGCAAATCCTAACAGGCCTG-3' (22mer)

Pig-Primer R 5'-CGTTTGCATGTAGATAGCGAATAAC-3' (25mer)

Pig-probe 5'ROX-AACAGCTTTCTCATCAGTTACACACAT-3'BHQ2 (27mer)

Tm値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

Tm

66.2

65.0

70.2

# 高速PCR測定例(牛乳)



試料 牛乳(M社)  
前処理 牛乳を水道水で100倍に薄め3秒間ボルテックスにて攪拌

## 反応組成

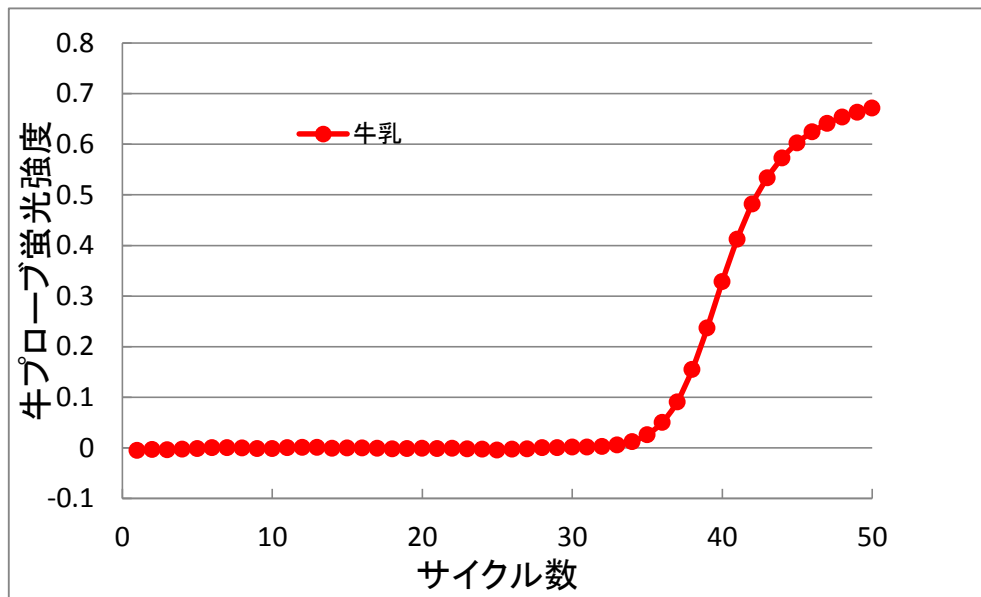
コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛/豚/鶏)	450/600/450	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛/豚/鶏)	450/600/450	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg2+	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	63°C	15sec	50cycle
変性	95°C	3.5sec	

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1  
 Cow-Primer F 5'-CCCGATTCTTCGCTTTCCAT-3' (20mer) Tm 66.8  
 Cow-Primer R 5'-CTACGTCTGAGGAAATTCCTGTTG-3' (24mer) Tm 65.4  
 Cow-probe 5'FAM-CATCATAGCAATTGCCATAGTCCAC-3'BHQ1 (25mer) Tm 70.2  
 Tm値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 迅速PCR測定例(マヨネーズ)



**試料** マヨネーズ  
**前処理** マヨネーズ0.03gと水道水1mLをボルテックスで2分攪拌し更に水道水で100倍希釈し数秒ボルテックスで攪拌。直後に容器中央付近から採取

## 反応組成

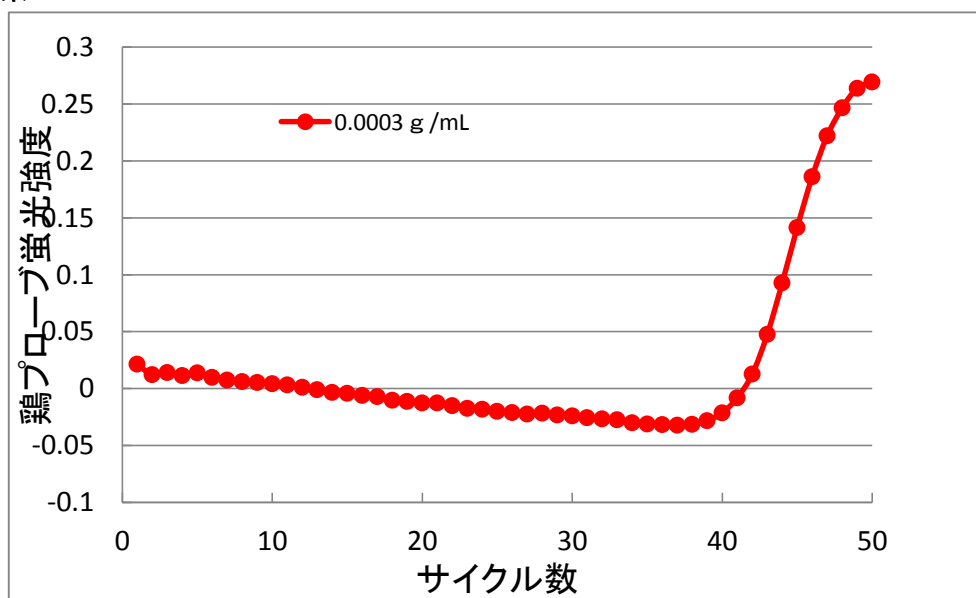
コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer (牛/豚/鶏)	450/600/450	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
R-Primer (牛/豚/鶏)	450/600/450	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
Probe (牛、豚、鶏)	各 200	nM	(株)日本遺伝子研究所 ※1
追加Mg <sup>2+</sup>	1.25	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	63°C	15sec	50cycle
変性	95°C	3.5sec	

## 結果



測定は牛・豚・鶏のマルチプレックスで実施

※1  
 Chicken-Primer F 5'-TCTGGGCTTAACCTCATACTCACC-3' (25mer) T<sub>m</sub> 65.6  
 Chicken-Primer R 5'-GGTTACTAGTGGGTTTGCTGGG-3' (22mer) T<sub>m</sub> 65.6  
 Chicken-probe 5'-Cy5-CATTCCCTAACACTAGCCCTATTCTCC-3'BHQ3 (26mer) T<sub>m</sub> 70.3  
 T<sub>m</sub>値計算は最近接塩基法による。ただしプローブは日本遺伝子研究所様の計算法

# 高速PCR測定例(アユ)



**試料** 冷凍アユの解凍時に出た解凍液  
**前処理** 1mgの解凍液を1gの純水で希釈後ボルテックスで攪拌  
 ①そのまま②100希釈液、③10000倍希釈したもの

## 反応組成

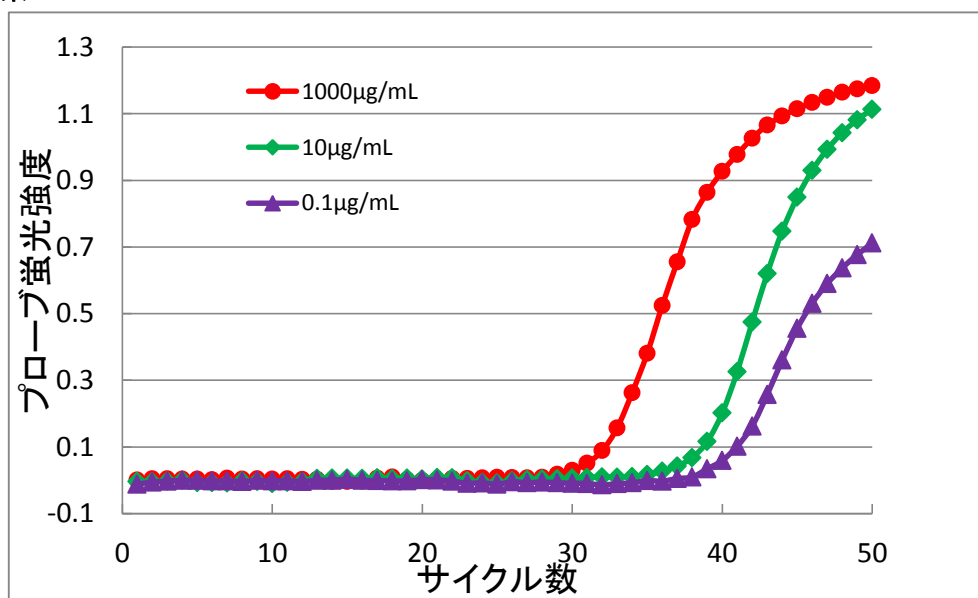
コンポーネント	最終濃度	単位	備考
KAPA 3G Plant polymerase	1.6	U/rxn	KAPA 3G plant
Buffer (×2)	2倍希釈		KAPA 3G plant
F-Primer	900	nM	兵庫県立大様よりご提供 ※1
R-Primer	900	nM	兵庫県立大様よりご提供 ※1
Probe	250	nM	兵庫県立大様よりご提供 ※1
追加Mg2+	0	mM	KAPA 3G plant
試料	1	μL	
PCR grade water	α		

反応試料Total 16 μL

## プログラム

工程	温度	時間	
初回変性	95°C	15sec	
アニーリング・伸長	60°C	10sec	50cycle
変性	95°C	3sec	

## 結果



※1  
 兵庫県立大学土居先生のご厚意による