

Affinity Plus qPCR Probes

Affinity Plus qPCR プローブに因る 特異性の向上とSNP解析への利用

Use qPCR probes with greater structural stability

ハイブリダイゼーションの特異性が高く、判別能が高いプローブを用いることで、qPCRを利用したSNP解析ができます。Affinity Plus qPCR プローブは、自由な設計が可能で、安定性の高い Locked nucleic acid nucleotides (図1) を6個まで使用することができます。

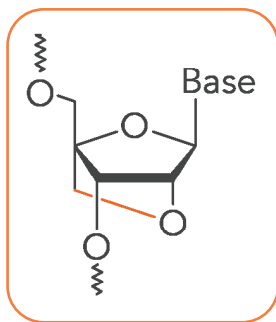


図1. モノマーのLocked nucleic acid。修飾されたペントース環の2'酸素と4'炭素間にメチレンブリッジ(オレンジ)を含みます。このブリッジにより、3'エンドのペントースリングが固定されます。

Obtain enhanced probe stability, plus ability to modulate Tm

Locked nucleic acid を含むAffinity Plus qPCR プローブは、GC含量の低い領域において、qPCRアッセイの安定性を向上させます。Affinity Plus qPCR プローブは、LNA® (Qiagen) プローブなどのLocked nucleic acid プローブと同様に、感度を向上させるアニーリング特性を備えています(図2)。さらにAffinity Plus 修飾を行った塩基をプローブにいくつ加えるかによって、プローブのTm値を調整できます。Tm値の調整により、プローブの長さを短くするなど、最適な長さに変更することもできます。プローブが短いほど mismatches の識別や、 mismatches の際のハイブリダイズにおける安定性に対して、影響が大きくなります。

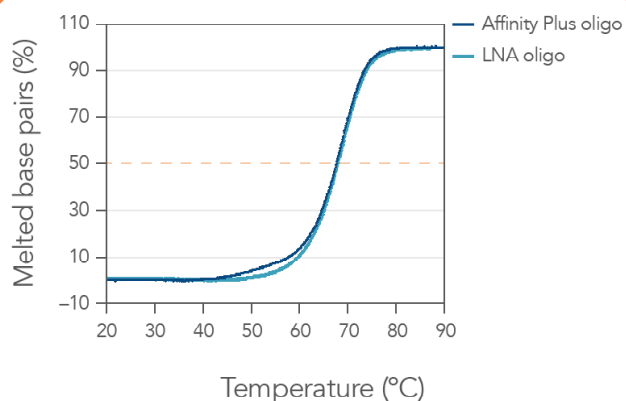


図2. Affinity Plus Locked nucleic acidsを含む二本鎖DNAは、LNAと同様のアニーリング特性を示す。15塩基の配列 [GGTCCT+T+A+CTTGGTG] は、+T、+A および +C部位に Affinity Plus もしくは LNA 修飾を組み込んで合成されました。これらのオリゴは、1 M Na⁺ バッファー (pH 7) で各配列の相補鎖と混ぜ合わされました。Owczarzy, et al., Biochemistry (2004), 43:3537-554 を基にメルティングカーブを描画しました。乖離した塩基対の割合は、温度の関数としてプロットされています。本実験は7回以上の冷却および過熱により得られています。融解温度は、Affinity Plus オリゴで $67.7 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 、LNAオリゴで $67.9 \pm 0.3^\circ\text{C}$ であると測定されました。37°Cでの二本鎖ハイブリダイゼーションの自由エネルギーを計測したところ、Affinity Plus オリゴでは、 $-18.1 \pm 0.9 \text{ kcal/mol}$ 、LNAオリゴでは、 $-18.7 \pm 0.9 \text{ kcal/mol}$ でした。これらの結果から、Affinity Plus および LNA 修飾におけるLocked nucleic acidは、同等のアニーリング特性を有します。

benefits

従来のプローブより優れたSNP判別能

ハイブリダイゼーションの特異性を高めるための簡単なアプローチ

MGBプローブよりも柔軟なTm値の調節

Discover more at

www.idtdna.com/AffinityProbes

Improve SNP analysis

図3では、Affinity Plus プローブとLNAプローブ、それぞれを用いたアッセイから得られたプロットを比較しています。

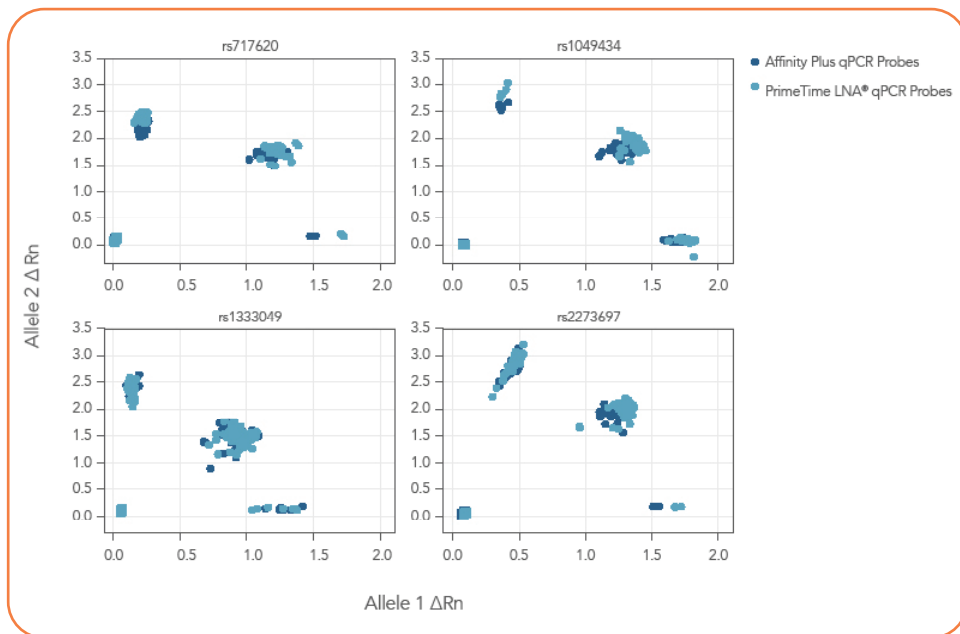


図3. Affinity Plus qPCR Probes は、PrimeTime LNA Probes と同等のコントロールを示す。46種の異なるDNAサンプル (Coriell) に対し、同配列をAffinity Plus qPCR プローブ、PrimeTime LNA qPCR プローブとして合成したプローブを用いて4種のジェノタイプングアッセイを行いました。Affinity Plus プローブとLNAプローブから得られた結果に明確な違いは見られませんでした。得られたすべての解析結果は以前得られた結果と一致しました(データ非掲載)。プライマーとプローブの配列は、Affinity Plus qPCR プローブのウェブページのパフォーマンスタブの表1に掲載しています。rs1333049以外はすべてADME※アッセイです。

※ADME (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion)

Ordering information

納期：約 2週間

Product	Delivery	5' Reporter dye	3' Quencher	Price
Mini Affinity Plus qPCR Probes	(納品量) 0.5 nmol	6-FAM, HEX, Yakima Yellow®	Iowa Black FQ	¥ 9,900
			6-FAM	Iowa Black FQ
Affinity Plus qPCR Probes	(合成スケール) 250 nmol	HEX Yakima Yellow	Black Hole Quencher® 1	¥ 37,000
			Iowa Black FQ	¥ 32,600
			Iowa Black FQ	¥ 32,600
			Iowa Black RQ-Sp	¥ 34,300
		Cy® 3	Iowa Black RQ-Sp	¥ 34,300
		Cy 5	Iowa Black RQ-Sp	¥ 35,400

※他の蛍光色素やクエンチャーの組み合わせ、250 nmoles 以上の合成スケール等も提供可能です。詳しくはウェブサイトをご参照下さい。

Yakima Yellow is a registered trademark of Elitech Group and the respective modifications are sold under a licensing agreement with Elitech Group for use in any application, including without limitation, all commercial and diagnostic applications.

Black Hole Quencher is a registered trademark of and licensed from Biosearch Technologies, Inc.

Cy is a registered trademark of and licensed from Amersham under 5,556,959 and 5,808,044, for RUO; now a registered trademark of GE HealthCare.

50% off プロモコード キャンペーン (2020年12月末日まで)

AffinityPlus50 - ご注文時にプロモコード [**AffinityPlus50**] を入力すると、Mini および 250 nmol のAffinity Plus qPCR プローブ(クエンチャーはIOWA Black Quencherのみ対象) が50% offで購入可能です。この機会にぜひAffinity Plus qPCR プローブをお試しください。(プロモコードの入力方法はウェブサイトをご参照ください。)

※本プロモコードは1度のみ、5本までに対して有効です。他のプロモコードとは併用できません。

代理店

お問い合わせ先

2020.04

INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES 株式会社

<http://sg.idtdna.com/jp/site>

IDT ジェノタイプング 検索

japan-cc@idtdna.com

〒108-0073 東京都港区三田一丁目4番28号 三田国際ビル24階

TEL 03-6865-1217 FAX 03-6865-1218