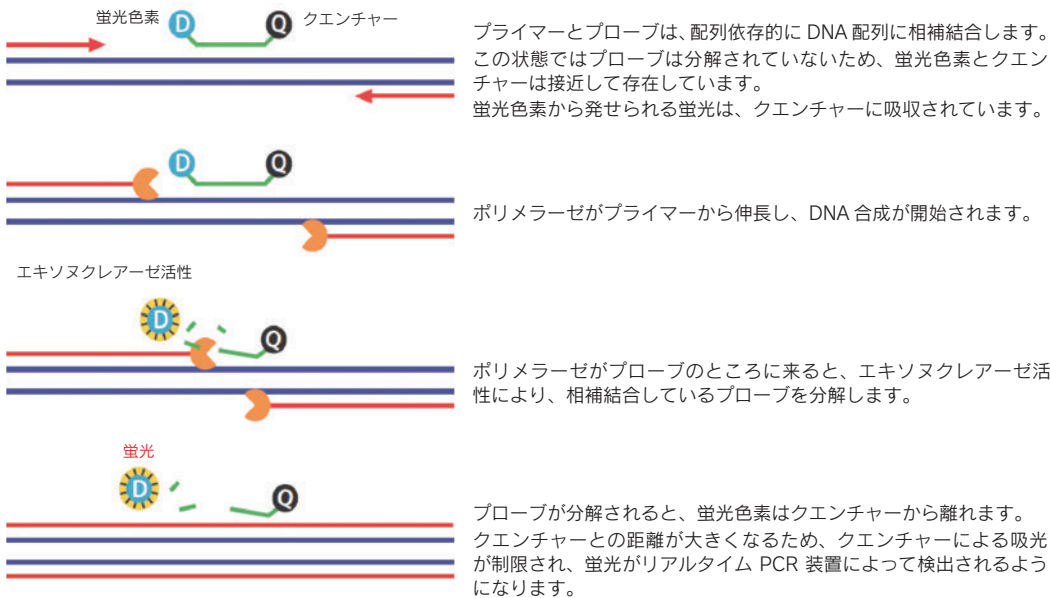


PrimeTime[®] リアルタイムPCR用プライマー・プローブ合成サービス

PrimeTime[®]製品を用いることで、今まで高価だったリアルタイムPCR-ハイブリダイゼーション法（プローブ法、5' Nuclease Assay法）を、比較的安価に行うことができます。プローブ法はインターカレーター法と比較して特異性が高く、また融解曲線を描いたりPCR後のサンプルを電気泳動する必要もありません。遺伝子発現解析において、最も確実な手法と言われていています。お客様が現在行なっている発現解析実験との比較検討のために、初回発注お試し無償サンプル提供が可能です。ぜひ一度お問い合わせください。

PrimeTime[®] 5' Nuclease Assayの原理



合成サービス一覧

PrimeTime[®] qPCR Assays

フォワードプライマー（以下 Fw プライマー）、リバースプライマー（以下 Rv プライマー）、プローブの3点を1つのチューブに入れて納品します。カスタム（任意の配列3種）及びプレデザイン版をお選び頂けます。プレデザインは、ヒト・マウス・ラットに対応しております。プライマーおよびプローブを1本ずつ納品したい場合は、probesおよびプライマー合成（p.2）をご利用ください

PrimeTime[®] qPCR Probes

プローブのみを納品します。

PrimeTime[®] qPCR primers

インターカレーター法での検出用プライマーです。Fw プライマー、Rv プライマーの2点を1つのチューブに入れて納品します。ヒト・マウス・ラットのプレデザインがございます。

LNA PrimeTime[®] Probes

SNPs 検出用など LNA 塩基を含むプローブのみを納品します。LNA 塩基を含むプローブの Tm 値計算ツールにて、LNA プローブの設計も可能です。

PrimeTime[®] Gene Expression Master Mix

ハイブリダイゼーション法（プローブ法、5' Nuclease Assay法）用の Master Mix です。PrimeTime を含む、いずれのプローブにもお使いいただけます。

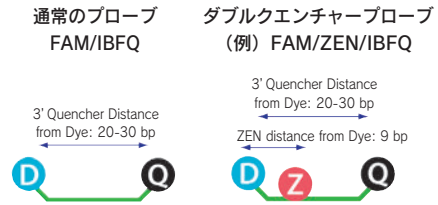
注意事項

本製品(PrimeTime[®]製品)は、5' Nuclease Assayのライセンス付きです。購入に際しては、研究用途(internal research purpose)での使用に限り、その他の用途に使用しない事、及び再販売しない事をご承諾いただきます。p.78~79の Usage, Warranty, and Licenses をご覧ください。

PrimeTimeの特徴その1

ダブルクエンチャープローブ

IDTでは、バックグラウンドを軽減させることで高いS/N比を実現できる「ダブルクエンチャーシステム」を採用しています。これまでは、5'末端と3'末端に蛍光色素とクエンチャーを用いることが一般的でしたが、ダブルクエンチャーシステムでは、5'末端から9塩基と10塩基の間にZENやTAOというクエンチャーを追加しています。これにより、プローブ内の消光作用がより大きくなるため、顕著にバックグラウンドが軽減します。また、プローブが長くなりがちなAT-rich領域でもZEN™やTAO™といったインターナルクエンチャーの利用により、有効なプローブを作製できます。



クエンチャーとは

クエンチャーとは、蛍光物質が発するエネルギーを検出範囲外のエネルギーや熱エネルギーとして放出する物質を指します。クエンチャーでも特に、「熱エネルギーとしてエネルギーを放出し、蛍光を発しない」タイプをダーククエンチャーと呼びます。Black Hole Quenchers® がダーククエンチャーとして有名です。

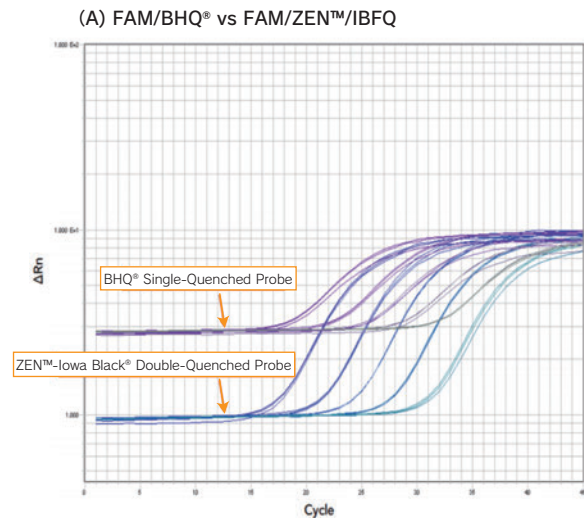
Iowa Black® Dark Quenchers, ZEN Quencher, TAO Quencher

IDTでは、Iowa Black® Dark Quencher (IBRQ, IBFQ)という独自のダーククエンチャーを開発しています。またZEN™、TAO™という2種のインターナルクエンチャーもIDT独自技術です。広範囲のクエンチングはもちろん、自社特許のため、安価にご提供できます。

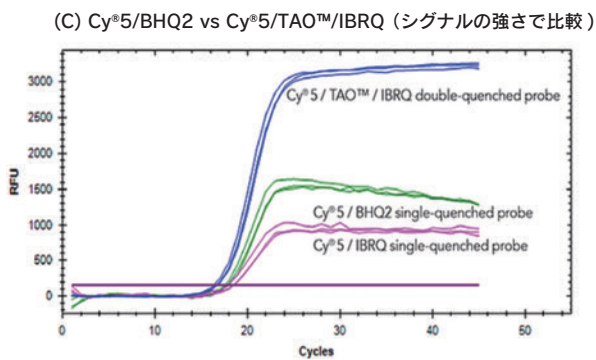
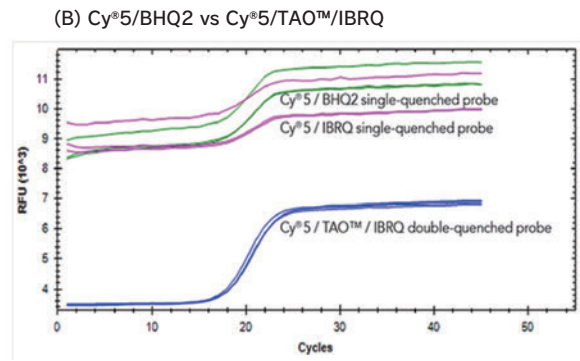
👉 IDT本社がIowa州にあるため、「Iowa」がその名称に使われています。

ダブルクエンチャープローブとバックグラウンド

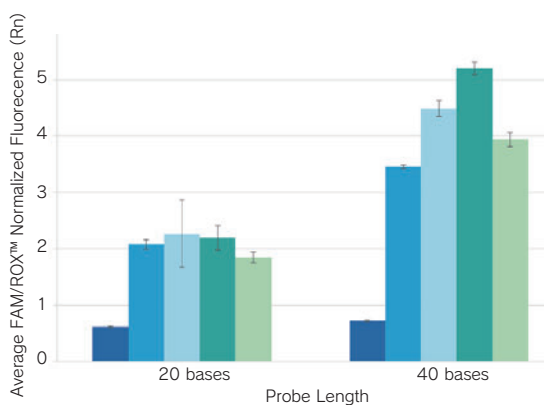
ダブルクエンチャーシステムを用いることで、バックグラウンドは顕著に軽減します。(A)(B)(C)はそれぞれZEN™、TAO™の2種のインターナルクエンチャーを用いたときのデータです。



(A) BHQ と ZEN™/IBFQ においては、ZEN™/IBFQ プローブにより、顕著にバックグラウンドが軽減されている事が分かります。(B) (C) TAO™/IBRQ を組み合わせる事により、著しくバックグラウンドが下がり、Cy®5 における S/N 比がこれまでよりも大きく改善されました。



プローブの長さ と ダブルクエンチャープローブの関係



(A) 5' FAM/ZEN™/3' IBFQ
 (B) 5' FAM/3' BHQ®-1
 (C) 5' FAM/3' Eclipse®
 (D) 5' FAM/3' IBFQ
 (E) 5' FAM/3' TAMRA

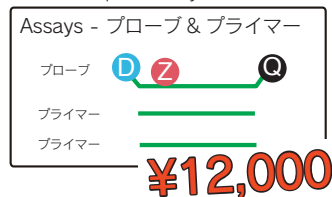
左図は、プローブが 20 塩基の場合と、40 塩基の場合の蛍光の強さを表しています。数値が小さいほどプローブが消光され、バックグラウンドが小さくなります。(B)~(E)では、プローブが 40 塩基になると蛍光色素とクエンチャーの距離が長くなるため、蛍光が漏れてしまっています。しかし (A) では、蛍光色素から約 9 塩基の位置に ZEN クエンチャーがある事で、しっかりと消光できている事が分かります。

PrimeTimeの特徴 その2

Mini 合成スケール

IDTでは、より安価にお客様にご利用いただくために、5' FAM, ZEN, 3' IBFQのMini scale (20 μL 反応系 100 回分) という設定を用意しています。お客様が現在行っている実験との比較検討のために、初回発注お試し無償サンプルの提供が可能です。5' Nuclease Assayやダブルクエンチャープローブを試してみたい方はぜひお気軽にお問い合わせください。

PrimeTime qPCR Assays Mini スケール



PrimeTime qPCR Probes Mini スケール



プレデザイン (PrimeTime® qPCR Assays)

ヒト・マウス・ラットでは、各ターゲット遺伝子用にプレデザインした推奨品があります。

プレデザイン製品はAccession No.の情報のみで注文が可能です。ご注文時に配列開示はしておりませんが、納品時に同封されるデータシートに3本のプライマー・プローブの配列情報が記載されています。

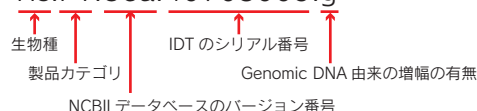
2015年8月の時点でそれぞれ、ヒト23,144遺伝子(183,095種)、マウス23,864遺伝子(178,641種)ラット19,411遺伝子(157,936種)に対するプレデザインがあります。()内はプレデザイン数です。

■ 内在性コントロール例

ヒト			マウス			ラット		
Accession No.	遺伝子名	PrimeTime Assay ID	Accession No.	遺伝子名	PrimeTime Assay ID	Accession No.	遺伝子名	PrimeTime Assay ID
NM_000194(1)	HPRT1	Hs.PT.58v.45621572	NM_009735(1)	B2m	Mm.PT.58.10497647	XM_003752155(2)	Hprt1	Rn.PT.58.37395539
NM_004048(1)	B2M	Hs.PT.58v.18759587	NM_013684(1)	Tbp	Mm.PT.58.10867035	NM_012512(1)	B2m	Rn.PT.58.44337940
NM_003194(1)	TBP	Hs.PT.58v.39858774	NM_010368(1)	Gusb	Mm.PT.58.13834361	NM_001004198(1)	Tbp	Rn.PT.58.18641244
NM_000181(1)	GUSB	Hs.PT.58v.27737538	NM_007393(1)	Actb	Mm.PT.58.33257376.gs	NM_017015(1)	Gusb	Rn.PT.58.37252396
NM_001101(1)	ACTB	Hs.PT.56a.40703009.g	NM_009089(1)	Polr2a	Mm.PT.58.13811327	NM_031144(1)	Actb	Rn.PT.58.13971699.gs
NM_000937(1)	POLR2A	Hs.PT.58.25515089	NM_007475(1)	Rplp0	Mm.PT.58.43894205	XM_00272723(4)	Polr2a	Rn.PT.58.35295130
NM_001002(2)	RPLP0	Hs.PT.58.20222060	NM_008907(1)	Ppia	Mm.PT.39a.2.gs	NM_022402(1)	Rplp0	Rn.PT.58.45174577
NM_021130(1)	PPIA	Hs.PT.58v.38887593.g				NM_017101(1)	Ppia	Rn.PT.39a.22214830

Assay IDに含まれる情報

例: Hs.PT.56a.40703009.g



<生物種>

Hs: Homo Sapiens (human)

Mm: Mus Musculus (mouse)

Rn: Rattus Norvegicus (rat)

<製品カテゴリ>

PT: PrimeTime®

< Genomic DNA由来の増幅の有無 >

g: イントロンを含む増幅サイズが短いので、Genomic DNAが混入した場合、増幅する恐れがあります。

gs: プローブがエキソンジャンクションに設計してありますので、プローブ法ではGenomic DNAを増幅しませんが、インターカレーター法ではGenomic DNAが混入した場合、増幅する恐れがあります。

空欄: Genomic DNAが混入していても増幅しません。

LNA PrimeTime® Probes

LNA PrimeTime® Probesとは、LNA (Locked Nucleic Acids)を組み入れたプローブです。

LNA塩基は、AとTの様に相補的である場合には強く結合するためTm値を大きく上昇させるという特徴があります。そのため、AT-richな領域に対しては短くTm値の高いプローブを作成することが可能です。

*長いプローブでは、蛍光色素とクエンチャーの距離が遠くなるため感度が低くなります。なお、ダブルクエンチャーを用いる事で感度を改善できます。(p.17)

また、AとCの様にミスマッチである場合はTm値が著しく下がります。SNPにLNAを設けることで、ミスマッチの塩基ではプローブが機能しなくなるため、SNPsの検出にも利用されています。

なお、MBLライフサイエンスサイト及び本カタログp.76にて、LNAプローブの設計ツールの使い方を掲載しております。是非一度ご覧下さい。また、LNAプローブのデザインも併せて承っております。ウェブサイトよりお申込み下さい。

「IDT プライマー」で検索 または オリゴ合成受託サービストップページ より

IDTサイトの使い方> LNA プローブの設計方法 (http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/How_to_design_LNA_probes.html)

色素と対応機器について

	色素と最大蛍光波長								
	FAM 520 nm	TET™ 539 nm	HEX™ 555 nm	JOE 555 nm	Cy®3 564 nm	TAMRA 583 nm	ROX™ 608 nm	Texas Red® 617 nm	Cy®5 668 nm
Applied Biosystems® 7500/7500 Fast									
Applied Biosystems® 7900HT									
Applied Biosystems® StepOne™ System									
Applied Biosystems® ViiA™ 7									
Applied Biosystems® QuantStudio 6									
Bio-Rad CFX384™/ CFX96™ System									
Cepheid Smartcycler®									
Roche LightCycler® 480									
Stratagene™ MX3005P									

* As of March 2015

- 機器のサプライヤーが提供もしくは推奨する色素
- 機器はサポートしているが、キャリブレーションが必要な場合がある色素
- 機器がサポートしていない色素
- ROX をリファレンス用チャンネルとして使用

※ IBFQ 等のダーククエンチャーは「Quencher」の設定を「None」にしてください。

色素・クエンチャー対応表

色素	蛍光波長 (nm)	クエンチャー	参考*
6-FAM™	520	ZEN™-Iowa Black® FQ Black Hole Quencher®-1	VIC® (554nm)
TET™	539		
HEX™	555		
JOE™	555		
Yakima Yellow®	549	Iowa Black® RQ Black Hole Quencher®-2	
Cy®3	564		
ATTO™550	575		
TAMRA™	583		
ATTO™ 565	591		
ROX™	608		
Texas Red®-X	617		
ATTO™ 633	657		
ATTO™ 647	669		
Cy® 5	668		

- ◎ Yakima Yellow® は HEX と比較して蛍光強度が高いです。もし HEX を用いて蛍光が弱い場合、ぜひ Yakima Yellow® をお試しください。
- ◎ G 塩基に直接蛍光色素を標識すると、G 塩基がクエンチングの作用を及ぼし、蛍光が弱まる傾向があります。FAM™、HEX™、CY®3 をお使いの場合はご注意ください。詳しくはお問い合わせください。

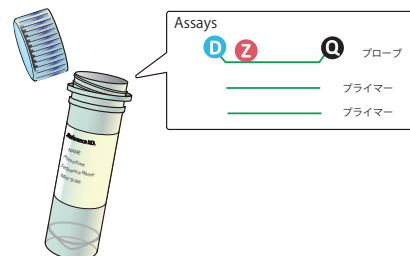
※弊社では取り扱っていない色素です。

PrimeTime® qPCR Assays

納品形態：Primer2本+Probe1本を、1本のチューブに入れて納品 精製グレード：Probe - HPLC精製、Primer - 脱塩 納期：5～10営業日

ヒト・マウス・ラットについては、IDTでプレデザインした推奨品があります。配列は納品時に開示します。Accession No. (RefSeq Database No.)や遺伝子名で注文が可能です。

5'Dye	Quencher	合成スケール		
		Mini	Standard	XL
FAM	ZEN/IBFQ	¥12,000	¥18,000	¥54,000
	TAMRA	-	¥23,000	¥62,000
TET	ZEN/IBFQ	-	¥23,000	¥62,000
HEX	ZEN/IBFQ	-	¥23,000	¥62,000
Cy5	IBRQ	-	¥23,000	¥62,000
Probe 納品量		0.5 nmole	2.5 nmole	12.5 nmole
Primer 納品量		1.0 nmole	5.0 nmole	25.0 nmole
反応回数 (20 µL 反応系)		100 回	500 回	2,500 回



- ・Primerの量は、Standardの場合2.5～10 nmoleの範囲で、XLの場合12.5～50 nmoleの範囲で指定可能です。
- ・Probeの長さは、15～35 basesです。それ以外の長さは、お問合せください。
- ・プライマーとプローブの納品量はご注文に簡単に変更できます。例えばddPCRでは、プライマー：プローブ=4:1をお勧めしています。

PrimeTime® qPCR Probes

お見積り・ご注文方法 ▶▶▶ p.66



納品形態：Probeのみ納品 精製グレード：HPLC精製 納期：5～10営業日

5'Dye	Quencher	合成スケール				
		Mini	Eco	100 nmole	250 nmole	1 µmole
FAM	ZEN/IBFQ	¥10,000	¥15,000	¥30,000	¥42,000	¥64,000
	TAMRA	-	-	¥30,000	¥42,000	¥64,000
	BHQ1	-	-	¥30,000	¥42,000	¥64,000
TET	ZEN/IBFQ	-	-	¥38,000	¥54,000	¥80,000
	BHQ1	-	-	¥38,000	¥54,000	¥80,000
HEX	ZEN/IBFQ	-	-	¥38,000	¥54,000	¥80,000
	BHQ1	-	-	¥38,000	¥54,000	¥80,000
NEW! Yakima Yellow	ZEN/IBFQ	-	-	¥49,000	¥70,000	¥104,000
納品量		0.5 nmole	2.5 nmole	10 nmole 以上	25 nmole 以上	50 nmole 以上
反応回数 (20 µL 反応系)		100 回	500 回	2,000 回以上	5,000 回以上	10,000 回以上

NEW!

5'Dye	Quencher	合成スケール				
		Mini	Eco	100 nmole	250 nmole	1 µmole
MAX NHS Ester	ZEN/IBFQ	-	-	¥89,000	¥103,000	¥153,000
	BHQ1	-	-	¥89,000	¥103,000	¥153,000
Cy3	IBRQ	-	-	¥45,000	¥52,000	¥95,000
	BHQ2	-	-	¥69,000	¥79,000	¥120,000
TYE563	IBRQ	-	-	¥63,000	¥73,000	¥133,000
	BHQ2	-	-	¥89,000	¥103,000	¥153,000
TEX615	IBRQ	-	-	¥63,000	¥73,000	¥133,000
	BHQ2	-	-	¥89,000	¥103,000	¥153,000
NEW! Cy5	TAO/IBRQ	-	-	¥45,000	¥52,000	¥95,000
	IBRQ	-	-	¥45,000	¥52,000	¥95,000
	BHQ2	-	-	¥69,000	¥79,000	¥120,000
TYE665	IBRQ	-	-	¥63,000	¥73,000	¥133,000
	BHQ2	-	-	¥89,000	¥103,000	¥153,000
FAM	TAMRA NHS Ester	-	-	-	¥90,000	¥128,000
JOE NHS Ester	ZEN/IBFQ	-	-	-	¥70,000	¥104,000
	BHQ1	-	-	-	¥76,000	¥115,000
TAMRA NHS Ester	IBRQ	-	-	-	¥69,000	¥103,000
	BHQ2	-	-	-	¥91,000	¥139,000
ROX NHS Ester	IBRQ	-	-	-	¥69,000	¥103,000
	BHQ2	-	-	-	¥91,000	¥139,000
Texas Red-X NHS Ester	IBRQ	-	-	-	¥69,000	¥103,000
	BHQ2	-	-	-	¥91,000	¥139,000
納品量				2 nmole 以上	8 nmole 以上	20 nmole 以上
反応回数 (20 µL 反応系)				400 回以上	1,600 回以上	4,000 回以上

NEW!

- ・Probeの長さは、15～35 basesです。それ以外の長さは、お問合せください。

PrimeTime® qPCR Primers

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

納品形態：Primer2本を1本のチューブに入れて納品 精製グレード：脱塩 納期：5～10営業日
 IDTがブレテザインした、インターカレーター法用のプライマーです。

価格	Primer 納品量	反応回数 (20 μL 反応系)
¥9,000	5 nmole	500 回

・納品される primer は、同じID番号のPrimeTime® qPCR Assayの2本のPrimerと同じ配列です。

LNA PrimeTime® Probes 価格・納期

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.67
 設計方法 ▶▶▶ p.76

納品形態：LNA塩基を含むProbeのみを納品 精製グレード：HPLC精製 納期：5～10営業日
 マルチプレックス解析や、AT-rich領域へのプローブ作成、SNPs解析等にお使いいただけます。

5'Dye	3'Quencher	合成スケール		
		Mini	250 nmole	1 μmole
FAM	IBFQ	¥22,000	¥66,000	¥92,000
	BHQ1	-	¥73,000	¥102,000
HEX	IBFQ	¥23,000	¥69,000	¥96,000
	BHQ1	-	¥76,000	¥106,000
Yakima Yellow		¥27,000	¥90,000	¥125,000
納品量		0.5 nmole	8 nmole 以上	20 nmole 以上
反応回数 (20 μL 反応系)		100 回	1,600 回以上	4,000 回以上

5'Dye	3'Quencher	合成スケール		
		Mini	250 nmole	1 μmole
Cy3	IBRQ	-	¥95,000	¥133,000
	BHQ2	-	¥114,000	¥162,000
TYE563	IBRQ	-	¥131,000	¥184,000
	BHQ2	-	¥145,000	¥203,000
TEX615	IBRQ	-	¥136,000	¥191,000
	BHQ2	-	¥150,000	¥210,000
Cy5	IBRQ	-	¥97,000	¥136,000
	BHQ2	-	¥116,000	¥165,000
TYE665	IBRQ	-	¥131,000	¥184,000
	BHQ2	-	¥145,000	¥203,000
納品量			4 nmole 以上	10 nmole 以上
反応回数 (20 μL 反応系)			800 回以上	2,000 回以上

LNA PrimeTime® Probes 受注可能条件

- 5'末端に蛍光色素、3'末端にクエンチャーがあるプローブ
 - 塩基数 10～25 bases
 - LNAは1～6個
- ◎ 2,3.を満たさない場合でも、特別注文で承ることが可能です。
 合成できるかどうか、まずはお問い合わせください。

■ 特別注文について

- 最小合成スケール：250 nmole
- 保証収量が小さくなります。
- 特別注文費用がかかります。

Molecular Beacons

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

Reporter	Quencher	保証収量	価格	納期
5' 6-FAM	3' Dabcyl	10 nmole	¥64,400	約 10 営業日
		40 nmole	¥92,500	
	3' Iowa Black FQ	10 nmole	¥68,400	
		40 nmole	¥100,600	
5' TET	3' Iowa Black FQ	10 nmole	¥80,800	
		40 nmole	¥118,800	
5' HEX	3' Iowa Black FQ	10 nmole	¥85,400	
		40 nmole	¥125,700	
5' TYE 563	3' Iowa Black RQ	5 nmole	¥118,300	
		20 nmole	¥171,400	
5' TYE 665	3' Iowa Black RQ	5 nmole	¥116,700	
		20 nmole	¥176,200	

・価格には45塩基までの合成料金、HPLC精製料金が含まれています。

* IBFQ: Iowa Black® FQ, IBRQ: Iowa Black® RQ, BHQ1: Black Hole Quencher® 1, BHQ2: Black Hole Quencher® 2

PrimeTime® Gene Expression Master Mix

PrimeTime® Gene Expression Master Mixは、2×濃度のプレミックスタイプの高効率リアルタイムPCR試薬です。マスターミックスには、ホットスタートTaq DNAポリメラーゼ、dNTPs、MgCl₂、エンハンサー、安定化試薬が混合されており、どの機器でも使用可能です。

価格・納期

製品名	容量	反応回数 (20 µL 反応系)	Code No.	価格	納期予定
1 mL PrimeTime® Gene Expression Master Mix	1 x 1 mL	100 回	IDT-55770	¥12,000	1 ~ 2 営業日
5 mL PrimeTime® Gene Expression Master Mix	1 x 5 mL	500 回	IDT-55772	¥25,000	1 ~ 2 営業日
25 mL PrimeTime® Gene Expression Master Mix	5 x 5 mL	2,500 回	IDT-55771	¥100,000	1 ~ 2 週間

特徴

- ◎ PrimeTime® Gene Expression Master Mixは、リアルタイムPCR - ハイブリダイゼーション法(プローブ法、5' Nuclease Assay法)の実験に最適化されたPCR試薬です。
- ◎ IDT社以外で合成されたプローブと組み合わせての使用も可能です。もちろん、どの機器にも使用可能です。
- ◎ ファストサイクルとスタンダードサイクルの両方に使用可能です。ファストサイクルでも高い増幅効率を実現しています。
- ◎ リファレンス色素は別チューブで納品致します。
- ◎ 安定性が高いためオーバーナイトの実験をする際にも役立ちます。反応系を作製して24時間経過後から実験を開始しても反応効率に影響を与えません。
- ◎ マルチプレックス実験にも使用できます。FAM、HEXどちらでも同じ増幅カーブを描きます。

保存温度と有効期限

保存温度	有効期限
-15℃から-30℃	有効期限まで(外箱に記載、製造から約2年)
2-8℃	1ヶ月

- ・凍結融解を繰り返さないで下さい。
- ・リファレンス色素は避光した状態で保存して下さい。

ご注文方法

MBLに在庫がある製品のため、IDTウェブサイト及びMBLへの発注書両方でご注文可能です。ただ、プロモーションコードが適用できるのはウェブサイトからご注文頂いた場合のみです。下記のどちらかの方法でご注文下さい。

1. IDTのウェブサイトからご注文ください。ご注文方法はp.69をご参照下さい。
2. MBL製品の発注の際と同様に、Code No.、製品名、数量を指定し、代理店様へ発注してください。
(例) メーカー：MBL、Code No. IDT-55772、数量：1

納品方法

冷凍品のため、サンプル品であっても代理店様経由で納品させていただきます。

Promotion!!

無償サンプル提供及び半額キャンペーン

2016年12月31日まで

ウェブサイトからご注文頂く際、下記のプロモーションコードをご入力下さい。

FreeMasterMix …1mL 包装 (IDT-55770) を無償で提供致します。

MasterMix50 …5mL 包装 (IDT-55772) もしくは 25mL 包装 (IDT-55771) を 50%off にて提供致します。

- ※ 各プロモーションコードは一度しかご使用いただけません。
- ※ 1回のご注文当たり1種しかプロモーションコードをご使用頂けません。

ウェブサイトからのご注文方法は、p.69をご参照下さい。