天净沙系列

CAT#:14-142rTL

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 大鼠端粒相对长度检测试剂盒（染料法 qPCR）

Rat Relative Telomere Length Detection Kit（SYBR qPCR）

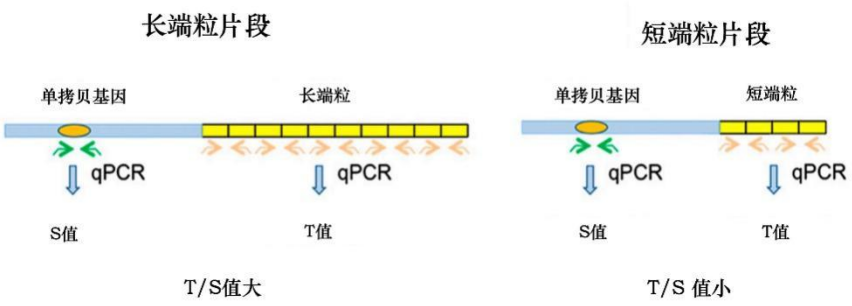
## 使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

端粒（Telomere）是指真核细胞染色体末端独特的蛋白质-DNA 结构，大鼠端粒由 TTAGGG 重复串联构成，长度约为 30～50 Kb。端粒对于大鼠染色体的稳定非常重要。有研究表明，端粒长度与 DNA 修复、衰老、细胞凋亡及肿瘤发生等有密切的联系，因此，准确而可重复地测量端粒长度尤为重要。本产品主要采用相对定量 qPCR 来直接比较样本的平均端粒长度，即采用端粒重复序列（Tel）的拷贝数与基因组单拷贝基因（SCR）的拷贝数比值(T/S)作为端粒相对长度。其原理示意图如下：




它具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供外周血 DNA 模板。
2. 操作只需要半天，比 Southern 杂交检测法快 3-5 天时间。
3. 无非特异性扩增。每组引物均已经过扩增曲线效率验证（E>98%，$R^2$>0.99），熔解曲线分析以及凝胶电泳验证。
4. 使用 PCR 扩增，几乎每个分子生物学实验都有相关设备，非常方便。
5. 本产品足够 100 次/50 样的染料法荧光定量 PCR 反应。
6. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品采用五孔盒包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 2×SYBR qPCR MasterMix | 990408 | 1 mL | 1.5 mL 离心管 |
| 50×Rox 染料 | 220118 | 250 μL | 1.5 mL 棕色管 |
| 超纯水 | 210806 | 1 mL | 1.5 mL 离心管 |
| 端粒基因引物（10 μM） | yw230431a | 50 μL | 1.5 mL 离心管 |
| 单拷贝基因引物（10 μM） | yw230431b | 50 μL | 1.5 mL 离心管 |
| 使用手册 | sc14-142rTL | 一份 | 无 |

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为一年。

## 自备试剂

基因组 DNA：在 20 μL 体系里可使用 0.5 ng 至 5 ng 量的基因组 DNA。

## 使用方法

### 一、反应体系

建立如下所述的反应体系。若要进行多个反应，可制备通用组分的预混液，在每管或每孔中加入合适的体积，然后加入特殊的反应组分（例如：模板）。

| 组成成分 | 使用量 | 终浓度 |
|---|---|---|
| 2×SYBR qPCR MasterMix | 10 μL | 1× |
| 端粒基因引物（10 μM）<br>或单拷贝基因引物（10 μM） | 0.4 μL | 0.2 μM |
| 模板 DNA（0.5~5 ng/μL） | 1 μL | |
| *50×ROX 染料（可选） | 0.4 μL | 1× |
| 超纯水 | 补足剩余至 20 μL | —— |

1. 推荐使用 20 μL 体系以保证目的基因扩增的有效性和重复性。

2. 盖上或密封反应管/PCR 板，轻轻混匀。可以稍微离心，确保所有组分都在管底。

3. 将反应体系置于荧光定量 PCR 仪中，收集数据并分析结果。按下表所示设置您的 PCR 仪。最适温度和孵育时间可视具体情形而定。

***ROX 染料**

可根据选择的仪器在反应体系中加入 ROX 染料，将反应体系中的荧光信号标准化。下表所列为使用不同仪器操作时所需的 ROX 量（每 50 μL 反应体系）：

| 仪器 | 每 50 μL 体系反应所需的 ROX 量 |
|---|---|
| ABI7300、7900HT、StepOne 等 | 5 μL |
| ABI7500、7500Fast、ViiA7、Stratagene Mx3000™、Mx3005P™以及 Mx4000 等 | 1 μL |
| Roche 仪器、Bio-Rad 仪器，Eppendorf 仪器等 | 无需添加 |

三步法扩增程序：

| 阶段 | 循环数 | 温度 | 时间 |
|---|---|---|---|
| 预变性 | 1× | 95℃ | 1 min |
| 变性 | 35-40× | 95℃ | 10 sec |
| 退火 | | 55℃ | 30 sec |
| 延伸 | | 72℃ | 45 sec |

| | |
|---|---|
| | 熔解曲线（Melt Curve）<br><br>注：决定最佳退火温度的主要因素为引物长度及引物碱基组成。根据试剂盒端粒及 SCR 引物组的特性，我们建议退火温度设置为 55℃。<br><br>**结果分析**<br><br>定量实验至少需要三个生物学重复。反应结束后需要确认扩增曲线及熔解曲线。<br><br>使用的 2^-ΔΔCt 法（Livak 法）进行的计算得到 T/S 的比值作为端粒的相对长度<br><br>1. For telomere (TEL), ΔCq (TEL) is the quantification cycle number difference of TEL between two genomic DNA samples.<br>ΔCq (TEL) = Cq (TEL, sample 2) - Cq (TEL, sample 1)<br>**Note**: the value of ΔCq (TEL) can be positive, 0, or negative.<br>2. For single copy reference (SCR), ΔCq (SCR) is the quantification cycle number difference of SCR between two genomic DNA samples.<br>ΔCq (SCR) = Cq (SCR, sample 2) - Cq (SCR, sample 1)<br>**Note**: the value of ΔCq (SCR) can be positive, 0, or negative.<br>3. ΔΔCq = ΔCq (TEL) - ΔCq (SCR)<br>4. Relative telomere length of sample 2 to sample 1 (fold) = $2^{-\Delta\Delta Cq}$ |
| **关联产品** | 大鼠端粒绝对长度检测试剂盒（探针法 qPCR） |