端粒酶活性测试剂盒（Q-PCR 法）

Telomerase activity detection kit (Q-PCR method)

Cat Number：GP1502M

Store at -20℃ for 12 months，避光

For Research Use Only

一 试剂盒说明

产品概述：

端粒酶是细胞体内一种核糖核蛋白复合体，是由RNA和蛋白质亚基组成的一种特殊的逆转录酶，其可以利用自身的RNA模板合成末端DNA，并添加到染色体末端以克服末端序列的丢失，从而使细胞获得增殖能力。端粒酶蛋白催化亚基（TERT或TRT）具有反转录酶的主要特征，其表达在正常细胞中受到抑制，研究表明，TERT或TRT的表达与端粒酶活性的表达一致，与端粒酶的活化程度密切相关。Wisman等在人卵巢癌中利用逆转录PCR检测hTERT的mRNA的表达，并采用TRAP法检测端粒酶活性，结果证实二者均存在于恶性肿瘤中并且表达模式相同。近几年许多研究应用此方法半定量检测TERT mRNA的表达与否和相对表达量的多少，从而间接表示端粒酶活性。基于上述原理，基谱生物端粒酶活性实时荧光定量PCR检测试剂盒通过检测TERT的mRNA表达水平来间接反应端粒酶的活性。

实时荧光定量 PCR（SYBR Green Real-time PCR）方法以其卓越的快速性及定量性被广泛应用于科研领域，使用本产品可以准确快速检测样本端粒相对长度。试剂盒中含有的 FastSYBR Mixture 是专用于染料法(SYBR GreenⅠ)实时荧光定量 PCR 的预混体系，浓度为 2×,包含 Fast Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、SYBR Green I 荧光染料和 Mg2+，操作简单方便。Fast Taq DNA Polymerase 能有效减少在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增，酶的激活仅需在 95℃孵育 20s。整个 PCR 反应过程比普通反应可节省约 40 分钟，大大缩短了 PCR 的反应时间。独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制了非特异产物的产生，并显著提高 PCR 的扩增效率。

产品应用：

适应于大多数的 Real-time PCR 扩增仪，包括 Applied Biosystems 7500/7500 Fast，Bio-rad iCyler iQ，iQ5，Roche LightCycler 480，Roche LightCyler 96，Corbett Rotor Gene 3000，杭州博日（Line-GeneBioer）等品牌的 PCR 扩增仪。

二 试剂盒组份

组分名称	20 tests	50 tests	保存条件
2×FastSYBR Mixture	500 ul	1.1ml	-20℃，避光
Water, nuclease-free	500 ul	1.1ml	
TERT-1 primer (10 uM)	15ul	25 ul	
TERT-2 primer (10 uM)	15ul	25ul	
GAPDH-1 primer (10 uM)	15 ul	25 ul	
GAPDH-2 primer (10 uM)	15 ul	25 ul	

三 操作步骤

1. 提取样本总 RNA，并进行反转录获得 cDNA 作为模板待用。
2. 将试剂盒中的组分溶解后，轻轻混匀并低速离心。
3. 进行 20ul 体系的实时定量 PCR 请参考以下表格（cDNA 模板下一步中添加）：

TERT PCR 反应体系:（体系配制完成应尽快上机，切勿长时间放置）

2×FastSYBR Mixture	10ul
TERT-1 primer (10 uM)	0.4ul
TERT-2 primer (10 uM)	0.4ul
Template DNA	<500ng
Water. Nuclease-free	to 20ul

GAPDH PCR 反应体系:（体系配制完成应尽快上机，切勿长时间放置）

2×FastSYBR Mixture	10ul
GAPDH-1 primer (10 uM)	0.4ul
GAPDH-2 primer (10 uM)	0.4ul

Template DNA	<500ng
Water. Nuclease-free	to 20ul

4. PCR 反应条件：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95℃	30s	1
变性	95℃	5s	35-45
退火/延伸	60℃	30s	

注：融解曲线分析根据所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定。