

端粒相对长度检测试剂盒（Q-PCR 法）

Telomere length detection kit (Q-PCR method)

Cat Number: GP1501

Store at -20°C for 12 months, 避光

For Research Use Only

一 试剂盒说明

产品概述:

端粒是真核细胞线形染色体末端的一种特殊结构，由端粒 DNA 和端粒蛋白质组成，端粒 DNA 是富含 G 的高度保守的重复核苷酸序列。不同物种的端粒 DNA 序列并不一致，人和其它哺乳动物的端粒 DNA 序列由 5'-3'方向的(TTAGGG)_n 反复串联组成，其长度人类大约有 2~15kb，是非结构基因，不具有编码蛋白质的功能。Cawthon 提出应用荧光定量 PCR 的方法测量端粒长度，并被广泛应用于人白细胞基因组 DNA 长度的测定。该方法测定端粒（T）重复拷贝数与单拷贝基因（S）的比率，即 T/S 比率（T/S ration） $= [2^{Ct(Telomeres)} / 2^{Ct(S)}]^{-1} = 2^{-\Delta Ct}$ ，由于 T/S 比率同端粒长度成正比关系，因此可以通过 T/S 比率得到端粒的相对长度。也可以求得一个样本相对于其他样本的相对 T/S 比率（相对 T/S ration） $= 2^{-(\Delta Ct1 - \Delta Ct2)} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

实时荧光定量 PCR（SYBR Green Real-time PCR）方法以其卓越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 UltraSYBR Mixture（Low ROX）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 GoldStar Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、SYBR Green I 荧光染料和 Mg²⁺，操作简单方便。GoldStar Taq DNA Polymerase 是一种经化学修饰的、全新高效热启动酶，在常温下没有聚合酶活性，有效避免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，酶的激活须在 95°C 下孵育 10 分钟。独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制了非特异性的 PCR 扩增，显著提高了 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 iCycler iQ, iQ5, Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 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 | 保存条件 | |
|-----------------------------------|----------|----------|
| | 20 tests | 50 tests |
| 2×UltraSYBR Mixture | 500 ul | 1.2ml |
| Water, nuclease-free | 500 ul | 1.2ml |
| Telomere primer-1 primer (10 uM) | 15ul | 35 ul |
| Telomere primer-2 primer (10 uM) | 45ul | 115ul |
| Single copy gene-1 primer (10 uM) | 10 ul | 30 ul |
| Single copy gene-2 primer (10 uM) | 10 ul | 30 ul |

-20℃，避光

三 操作步骤

1. 提取样本 DNA。
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：

Telomere PCR 反应体系：（体系配制完成应尽快上机，切勿长时间放置）

| | |
|----------------------------------|---------|
| 2×UltraSYBR Mixture | 10ul |
| Telomere primer-1 primer (10 uM) | 0.54ul |
| Telomere primer-2 primer (10 uM) | 1.8ul |
| Template DNA | <100ng |
| Water. Nuclease-free | to 20ul |

Single copy gene PCR 反应体系：

| | |
|-----------------------------------|---------|
| 2×UltraSYBR Mixture | 10ul |
| Single copy gene-1 primer (10 uM) | 0.4ul |
| Single copy gene-2 primer (10 uM) | 0.4ul |
| Template DNA | <100ng |
| Water. Nuclease-free | to 20ul |

4. PCR 反应条件:

Telomere PCR 反应条件:

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-------|-----|-------|---------|
| 预变性 | 95℃ | 10min | 1 |
| 变性 | 95℃ | 15s | } 35-45 |
| 退火/延伸 | 54℃ | 60s | |

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。

Single copy gene PCR 反应条件:

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-------|-----|-------|---------|
| 预变性 | 95℃ | 10min | 1 |
| 变性 | 95℃ | 15s | } 35-45 |
| 退火/延伸 | 60℃ | 60s | |

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。