

## 小鼠端粒长度检测试剂盒（染料法qPCR相对定量）

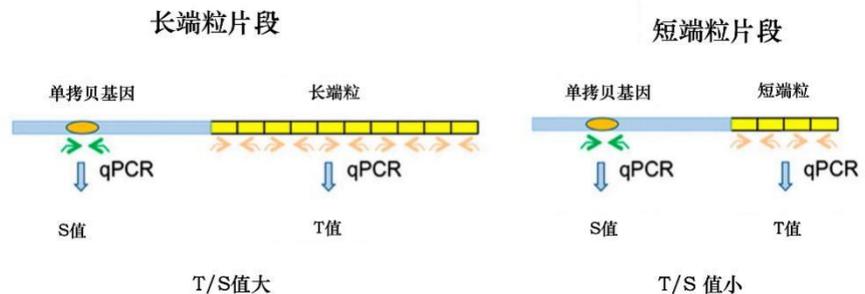
### Mouse Telomere Length Assay (SYBR qPCR Relative)

货号:BN66006

低温运输, -20℃避光保存, 保存期限为一年。

#### 产品及特点

端粒是指真核细胞染色体末端独特的蛋白质-DNA结构, 小鼠端粒由TTAGGG重复串联构成, 长度约为30~50Kb。端粒对于染色体的稳定非常重要, 其主要通过防止染色体降解及端端融合来维护染色体的稳定和功能。因为线形染色体的末端复制问题, 细胞每次分裂, 端粒逐渐减少, 直到达到关键长度, 此时细胞步入老化阶段。因此, 外周血白细胞的端粒长度与年龄呈负相关, 快速检测端粒长度具有重要的意义。本试剂盒根据染料法荧光定量PCR原理, 在同一反应中同时检测端粒和一个单拷贝基因, 根据两个扩增产生的荧光信号的比值来确定小鼠端粒的相对长度, 其原理示意图如下:



它具有下列特点:

1. 即开即用, 用户只需要提供小鼠外周血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. 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。
4. 准确检测各种起始量的模板, 扩增稳定、定量结果具有高度重复性。
5. 本产品足够50次20 μL体系的探针法荧光定量PCR反应。
6. 本产品只能用于科研。

本产品仅用于科研

### 规格及成分

成分	编号	规格
2×SYBR qPCR MasterMix	66006-1	1 mL
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	66006-2	1 mL
50×ROX (可选)	66006-3	250 μL
小鼠端粒引物 (10 μM)	66006-4	50 μL
小鼠单拷贝内参引物 (10 μM)	66006-5	50 μL

### 自备试剂

样品DNA。

### 使用方法

#### 一、SYBR qPCR反应 (20μL体系, 在样品制备室进行)

1. 强烈建议每个样本做3次重复 (定量实验至少需要3个生物学重复), 按下表加入各成分:

成分	样品管	内参管
2×SYBR qPCR MasterMix	各10 μL	各10 μL
小鼠端粒引物 (10 μM)	0.4 μL	-
小鼠端粒内参引物 (10 μM)	-	0.4 μL
待测DNA样本 (0.5-5ng/μL)	各1 μL	各1 μL
50×ROX (可选)	0.4 μL	0.4 μL
补超纯水到	20 μL	20 μL

注意: 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。下表为所列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反应所需ROX量
ABI7300、7900HT、StepOne	5 μL
ABI7500、7500Fast、ViiA7、Stratagene Mx3000™、Mx3005P™以及Mx4000™	1 μL
Roche仪器、Bio-Rad仪器、Eppendorf仪器	无需添加

2. 盖上盖子后上机，按下面参数进行PCR：

过程	温度	时间
预变性	95℃	1分钟
PCR反应 (35-40个循环)	95℃	10秒
	55℃	30秒
	72℃	45秒，采集（SYBR通道的荧光信号）
熔解曲线分析		

#### 四、数据分析

2. 熔解曲线分析：熔解曲线分析用于判断扩增是否有效。如果得到 $T_m$ 分别为81℃（端粒PCR产物）和80℃（内参PCR产物）的两个峰，则表示实验有效，可以进入下一步分析。如果没有同时得到这两个峰，则表示扩增为非特异性扩增，实验无效，不需要分析 $C_t$ 数据，需要找到原因后再继续实验。

3. 计算相对端粒长度：使用的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法（Livak法）进行计算，得到T/S的比值作为端粒的相对长度。

对于端粒， $\Delta C_q$ （端粒）是两个基因组DNA样本之间端粒的定量 $C_q$ 值之差： $\Delta C_q$ （端粒）=  $C_q$ （端粒，样本2）-  $C_q$ （端粒，样本1）；

注意： $\Delta C_q$ （端粒）的值可以是正数，0或负数。

对于单拷贝内参， $\Delta C_q$ （单拷贝内参）是两个基因组DNA样品之间单拷贝内参的定量 $C_q$ 值之差： $\Delta C_q$ （单拷贝内参）=  $C_q$ （单拷贝内参，样本2）-  $C_q$ （单拷贝内参，样本1）；

注意： $\Delta C_q$ （单拷贝内参）的值可以是正数，0或负数。

$\Delta\Delta C_q = \Delta C_q$ （端粒）-  $\Delta C_q$ （单拷贝内参）。

样本2/样本1的相对端粒长度（倍数）=  $2^{-\Delta\Delta C_q}$ 。

#### 关联产品

人端粒酶活性检测试剂盒（qPCR法）