



Running for Real Time PCR

1. Isolation of nucleic acid
2. cDNA synthesis
3. qPCR reactions

that's
GOOD
science!™

Real Time PCR试剂应该提供:

高效率

高特异性

可重复性

各种仪器的兼容性

完善的Real Time PCR解决方案尽在Takara!



Clontech Takara cellartis

完善的Real Time PCR解决方案!

Step 1 高效的DNA、RNA提取

RNA提取

去除基因组DNA的total RNA提取

TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit

高收量的total RNA提取

RNAiso Plus

DNA提取

高品质基因组DNA提取

TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit

组织破碎用TaKaRa BioMasher Standard

Step 2 高效的cDNA合成

仅用于定量PCR的cDNA合成

去除基因组DNA的cDNA合成

PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)

15分钟即可完成cDNA合成

PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)

RT引物可选择的cDNA合成

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)

全长cDNA合成

适用于初次实验者

PrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit

40分钟即可完成
定量反应

Thermal Cycler Dice™
Real Time System III



Step 3 提供丰富选择的Real Time PCR试剂

TB Green™ Premix

高特异性, 扩增范围广

TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)

快速qPCR

TB Green™ Fast qPCR Mix

适用于高GC含量的目标基因

TB Green™ Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)

有效抑制引物二聚体

TB Green™ Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time)

Dual-labeled Probe

有效抑制PCR阻碍物

Probe qPCR Mix

引物(探针)设计合成验证一条龙服务



与Takara一起
进入qPCR!

SUCCESS!

Takara 提供适用于「TB Green™(嵌合法)检测体系」、「探针法检测体系」及 Takara 特别开发的「CycleavePCR® 法」制品。根据实验目的选择合适的制品可最大限度减少繁琐的条件研讨,可进行高灵敏度、高特异性的 Real Time PCR /RT-PCR 反应。

Running for Real Time PCR目录

目录

	页数
●实验流程图及主要关联制品	5 ~ 6
RNA/DNA的制备	
• TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit	8
• RNAiso Plus / RNAiso Blood	9
• CellAmp™ Direct RNA Prep Kit for RT-PCR (Real Time)	10
• CellAmp™ Whole Transcriptome Amplification Kit (Real Time) Ver.2	11
• TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0	12
反转录反应	
• PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time).....	14
• PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time).....	14
• PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time).....	15
TB Green™ (嵌合法)检测体系	
原理	16
Real Time RT-PCR用引物的准备	
• 引物设计合成验证一条龙服务	18
• PrimerArray® Series / PrimerArray® Disease Series.....	19
• PrimerArray® Embryonic Stem Cells/Hepatic Differentiation	20
Real Time PCR用试剂	
• TB Green™ Fast qPCR Mix	22
• TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)	23 ~ 24
• TB Green™ Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)	24
• TB Green™ Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)	24
• MightyAmp™ for Real Time (TB Green™ Plus).....	24
• One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time).....	25
• One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	25
• One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit II (Perfect Real Time)	25

Running for Real Time PCR目录

目录

页数

探针法检测体系

原理26

引物·探针的准备

• 引物探针设计合成验证一条龙服务28

Real Time PCR用试剂

• Probe qPCR Mix 29 ~ 30

• *Premix Ex Taq*TM (Probe qPCR)..... 31

• One Step PrimeScriptTM RT-PCR Kit (Perfect Real Time)32

直接对培养细胞进行基因表达分析的新品试剂盒

• CellAmpTM Direct TB GreenTM RT-qPCR Kit34

• CellAmpTM Direct Probe RT-qPCR Kit 34

Cycling 探针法检测体系

原理 35

准备引物和探针

• 引物探针设计合成验证一条龙服务37

Real Time PCR用试剂

• CycleavePCR[®] Starter Kit / CycleavePCR[®] Reaction Mix36 ~ 37

• 特定基因检出用Real Time PCR Kit(探针法检测) 36

Real Time PCR仪

• Thermal Cycler DiceTM Real Time System 系列38 ~ 39

【关联制品】

• microRNA 定量研究的高性价比选择 40

● 制品一览表 41 ~ 42

Takara全面支持各位的Real Time PCR/RT-PCR实验!

※本页只介绍各检测体系的代表性制品。Takara还为您提供了许多其他制品，请参考本手册。

TB Green™ (嵌合法)检测体系

Step-1 制备模板RNA、DNA

- 操作简单,可制备高纯度 Total RNA的Spin Column型试剂盒
TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit (Code No.9767)
- 操作简单,可制备高品质基因组DNA的Spin Column型试剂盒
TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0
(Code No.9765)

Step-2 反转录反应

- 仅需15分钟即可合成适用于Real Time PCR的模板cDNA
本类产品中也含添加了去除基因组DNA反应步骤的制品
PrimeScript™ RT Kit系列(Code No. RR037Q/A/B,RR036Q/A/B,RR047Q/A/B)

Step-3 准备引物

- 引物设计合成验证一条龙服务

Step-4 Real Time PCR反应

试剂

- 扩增范围广,特异性强的标准型试剂
TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)
(Code No. RR820Q/A/B)
- 快速反应试剂(延伸时间10秒)
TB Green™ Fast qPCR Mix
(Code No. RR430S/A/B)
- One Step Real Time RT-PCR试剂
**One Step TB Green™ Primescript™ PLUS RT-PCR Kit
(Perfect Real Time)**(Code No. RR096A/B)

仪器

- 造型紧凑、性能高、软件易操作
Thermal Cycler Dice™ Real Time System系列
(Code No. TP950/TP970/TP980,TP700/TP760)

探针法检测体系

(CycleavePCR™法)

Cycling 探针法检测体系

Step-1 制备模板RNA、DNA

- 操作简单,可制备高纯度 Total RNA的Spin Column型试剂盒
TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit (Code No.9767)
- 操作简单,可制备高品质基因组DNA的Spin Column型试剂盒
TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0
(Code No.9765)

Step-2 反转录反应

- 仅需15分钟即可合成适用于Real Time PCR的模板cDNA
本类产品中也含添加了去除基因组DNA反应步骤的制品
PrimeScript™ RT Kit系列
(Code No. RR037Q/A/B、RR036Q/A/B、RR047Q/A/B)

Step-3 准备引物和探针

- 引物探针设计合成验证一条龙服务

Step-4 Real Time PCR反应

试剂

- 对PCR 阻害物抵抗性高的高灵敏试剂
Probe qPCR Mix (or with UNG)
(Code No.RR391/RR392)
- One Step Real Time RT-PCR试剂
One Step Primescript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Code No.RR064)
One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix (or with UNG)
(Code No.RR600/RR601)
PrimeDirect™ Probe RT-qPCR Mix (or with UNG) (Code No.RR650/RR651)

- Cycling 探针法检出Real Time PCR Premix型试剂
CycleavePCR™ Starter Kit
(Code No.CY505S)
CycleavePCR™ Reaction Mix
(Code No.CY505A/B)

仪器

- 造型紧凑、高性能、软件易操作
Thermal Cycler Dice™ Real Time System系列
(Code No. TP950/TP970/TP980、TP700/TP760)

RNA/DNA的制备

- 从动植物组织、细胞制备 Total RNA

TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit

- 利用AGPC法的 Total RNA 提取试剂

RNAiso Plus

RNAiso Blood

- 仅需10分钟即可从培养细胞直接提取RT-PCR用模板(裂解液)

CellAmp™ Direct RNA Prep Kit for RT-PCR (Real Time)

- 可从单细胞直接进行cDNA扩增

**CellAmp™ Whole Transcriptome Amplification Kit
(Real Time) Ver.2**

- 从动植物组织、细胞制备基因组DNA

**TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction
Kit Ver.5.0**

Total RNA的制备

从动植物组织、细胞制备Total RNA

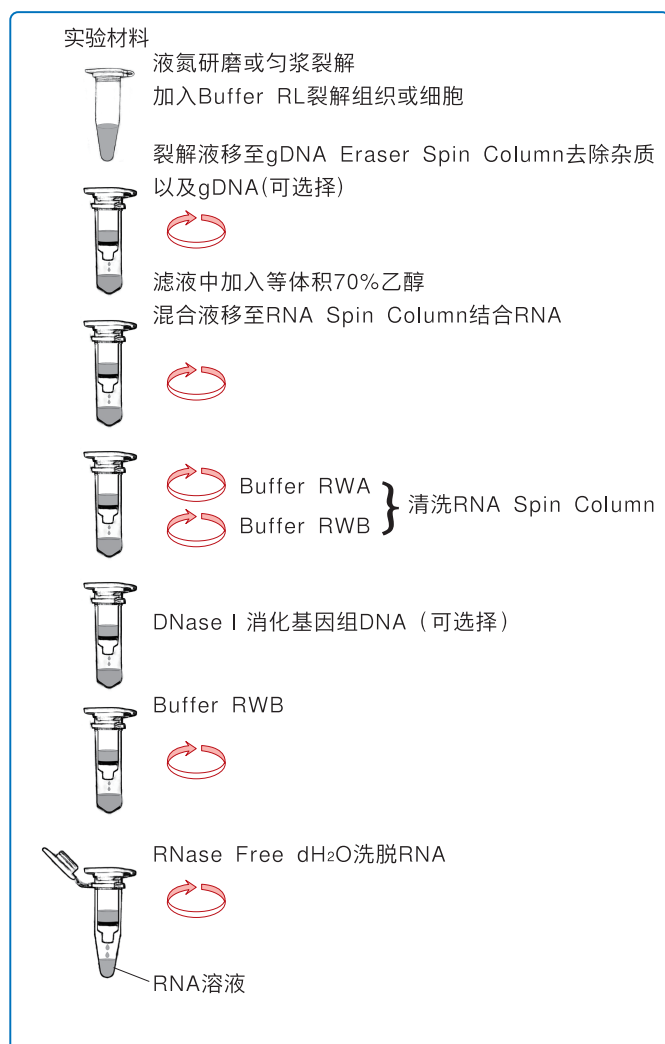
TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit



Code No.	包装量
9767	50 次

- 适用于多种材料的RNA提取, 如动植物组织、培养细胞等
- 不含有机试剂、避免苯酚氯仿抽提、安全无毒
- 高效、快速、操作方便, 适用于平行提取多个样品

■ 操作流程概要



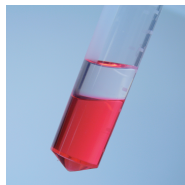
■ 标准Total RNA回收量

样品种类	样品名称	RNA 收量
动物组织	小鼠肝脏	30~50 μg/10 mg
	小鼠心脏	5~10 μg/10 mg
	小鼠肾脏	20~30 μg/10 mg
	小鼠胰腺	5~15 μg/10 mg
	小鼠脾脏	20~30 μg/10 mg
	小鼠胸腺	10~20 μg/10 mg
	小鼠肺	10~20 μg/10 mg
	小鼠脑	5~10 μg/10 mg
	大鼠肌肉	2~4 μg/10 mg
植物组织	玉米叶片	30~40 μg/100 mg
	葫芦叶片	10~15 μg/100 mg
	柳树叶片	40~50 μg/100 mg
	绿豆叶片	15~20 μg/100 mg
细胞	HL60 细胞	8~15 μg/10 ⁶ cells

Total RNA的制备

利用AGPC法的Total RNA提取试剂

RNAiso Plus



Code No.	包装量
9108Q	25 ml
9108	100 ml
9109	200 ml

- 从培养细胞、动植物组织高效提取 Total RNA
- 采用AGPC法提取试剂
- 特别推荐用于样品量多及大量回收 Total RNA

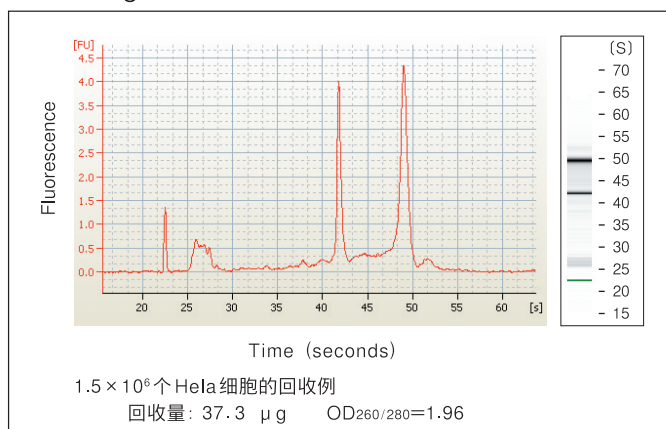
■ 标准 Total RNA 回收量

组织材料	样品量	Total RNA 回收量
小鼠肝脏	1 g	约5,000 μ g
小鼠肾脏	1 g	约3,000 μ g
小鼠骨骼肌	1 g	约1,500 μ g
小鼠脑	1 g	约1,500 μ g
HL60 培养细胞	1×10^7 个	约100 μ g
烟叶	1 g	约1,000 μ g
白细胞	1×10^7 个	20~40 μ g
全血*	1 ml	15~20 μ g

* 100 μ l 全血使用 1 ml RNAiso Plus。

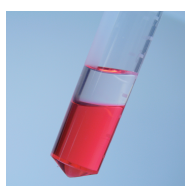
注意：回收量因样品状态、匀浆条件等发生变化。

■ 使用Agilent2100生物分析仪*的结果分析例



* 安捷伦科技公司的仪器

RNAiso Blood



Code No.	包装量
9112Q	25 ml
9112	100 ml
9113	200 ml

- 从血液或含水量较高的样品中有效提取 Total RNA
- 采用AGPC法提取试剂
- 特别推荐用于样品量多及大量回收 Total RNA

■ 利用RNAiso Blood时的标准 Total RNA 提取量

组织材料	样品量	Total RNA 回收量
人全血	0.25 ml	1~10 μ g
小鼠全血	0.25 ml	1~10 μ g
牛全血	0.25 ml	1~10 μ g
鲤鱼全血	0.25 ml	10~100 μ g
菠菜叶片	50 mg	30~60 μ g
西红柿果实	50 mg	1~10 μ g
橘子	50 mg	1~10 μ g

Total RNA的制备(模板为裂解液)

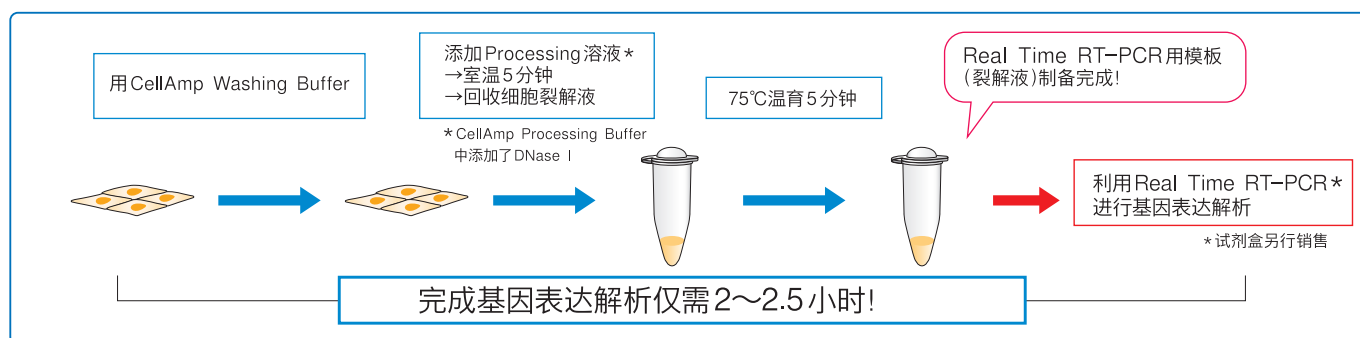
仅需10分钟即可从培养细胞直接提取RT-PCR用模板(裂解液)

CellAmp™ Direct RNA Prep Kit for RT-PCR (Real Time)

Code No.	包装量
3732	200 次

- 非常简便地从培养细胞提取Real Time RT-PCR用模板(裂解液)。所需时间短至10分钟!
- 与Takara公司的试剂组合使用,2小时内可进行基因表达解析
- 可用于TB Green™(嵌合法)分析、探针分析、1 Step、2 Step Real Time PCR反应等多种反应体系

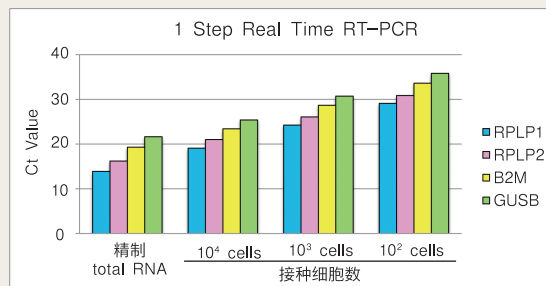
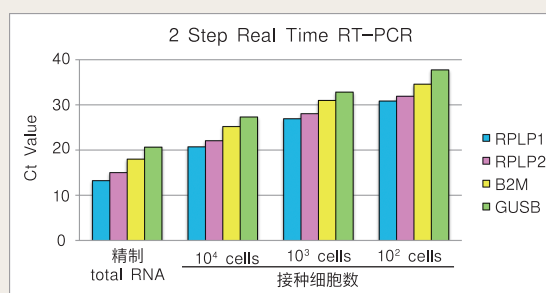
■ 操作流程(贴壁细胞)



■ 实验例: 使用CellAmp™ Direct RNA Prep Kit for RT-PCR (Real Time) 进行基因表达图表解析

【方法】

在24孔板中分别以 1×10^4 、 1×10^3 、 1×10^2 cells/well接种HEK293细胞,培养24小时后,按照“操作方法”制备了50 μ l细胞裂解液。以各裂解液作为TB Green™(嵌合法)检测体系1 Step及2 Step Real Time RT-PCR的模板,对4种目的基因进行了基因表达解析。同时使用由RNAiso Plus(Code No.9108)精制的Total RNA(100 ng)作为实验对照,同样进行了基因表达解析。



- 试剂(2 step): PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) (Code No. RR036A)
TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A)
- 试剂(1 step): One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)(Code No. RR096A)
- 目的基因: *RPLP1*
RPLP2
B2M
GUSB
- qPCR仪: Thermal Cycler Dice™ Real Time System II (Code No. TP900)
N=2反应后进行平均Ct值比较

【结果】

以不同细胞数对4种目的基因进行了基因表达解析,结果表明:不同细胞数的裂解液与高纯度精制的RNA基因表达量相当,可获得稳定的基因表达图表。

RNA 的制备(含 cDNA 扩增)

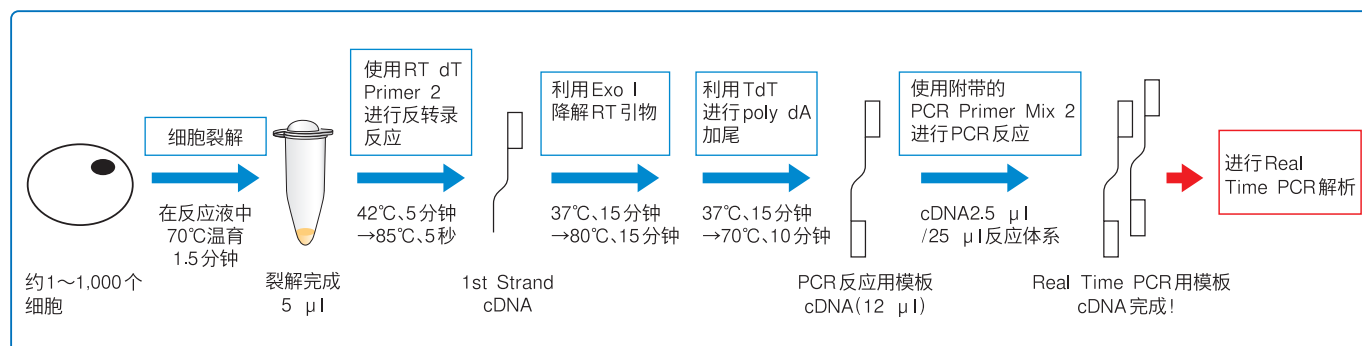
可从单细胞直接进行 cDNA 扩增

CellAmp™ Whole Transcriptome Amplification Kit (Real Time) Ver.2

Code No.	包装量
3734	100 次

- 从1~1,000个左右的细胞及20 pg~20 ng的total RNA高效扩增cDNA
- 可对少量样品进行多个基因的Real Time PCR解析
- 操作流程改良后,可高效扩增低表达基因

■ 操作流程(从细胞直接进行cDNA扩增)



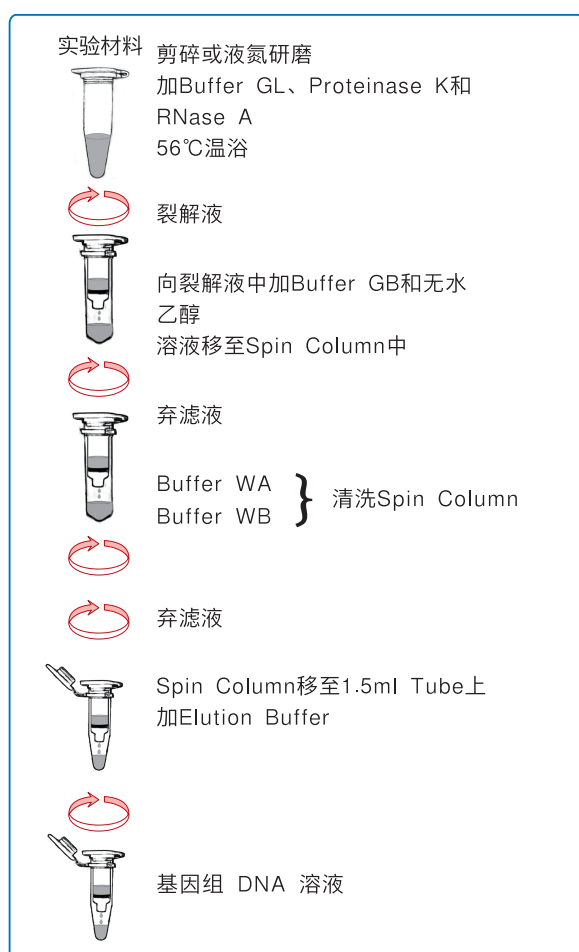
从动植物组织、细胞制备基因组DNA

TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0

Code No.	包装量
9765	50 次

- 适用于多种材料的DNA提取,如动植物组织、培养细胞、革兰氏阴性菌、全血
- 提取的DNA完整性好,纯度高,可用于多种分子生物学实验
- 高效、快速、操作方便: 不必液氮研磨,也可高效快速提取基因组DNA

■ 操作流程概要



■ 不同材料的 DNA 提取量

材料	组织起始量	DNA收量
小鼠肝脏	10 mg	5~10 μ g
小鼠脾脏	2~5 mg	5~20 μ g
小鼠尾巴	1.2 cm	10~15 μ g
小鼠脑	10 mg	4~10 μ g
小鼠肾	10 mg	5~10 μ g
小鼠肺	10 mg	5~10 μ g
小鼠肠	10 mg	5~10 μ g
小鼠耳	10 mg	4~10 μ g
鲤鱼鳍	25 mg	4~10 μ g
杂色蛤肉	10 mg	2~10 μ g
HL60培养细胞	2.0E+06 cells	10~15 μ g
<i>E.coli</i> JM109	2.0E+09 cells	5~10 μ g
马血	100 μ l	2~5 μ g
鱼血	5 μ l	10 μ g
芹菜	100 mg	4~6 μ g
油菜	100 mg	2~5 μ g
菠菜	100 mg	2~5 μ g

反转录反应

(2 step Real Time RT-PCR用)

- 2 step Real Time RT-PCR 用反转录试剂
PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)
- 2 step Real Time RT-PCR 用反转录试剂(完全预混型)
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)
- 去除基因组DNA后进行2 step Real Time RT-PCR反应专用反转录试剂
**PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser
(Perfect Real Time)**

2 Step Real Time RT-PCR用反转录试剂

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR037Q	10 μl反应x20 次
RR037A	10 μl反应x200 次
RR037B(Ax4)	10 μl反应x800 次

2 Step Real Time RT-PCR用反转录试剂(完全预混型)

PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR036Q	10 μl反应x20 次
RR036A	10 μl反应x200 次
RR036B(Ax4)	10 μl反应x800 次

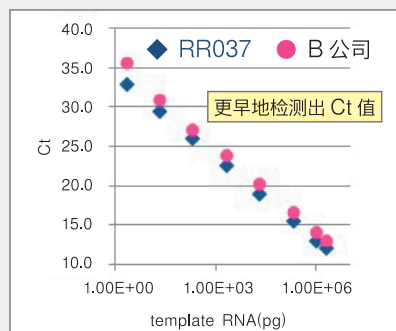
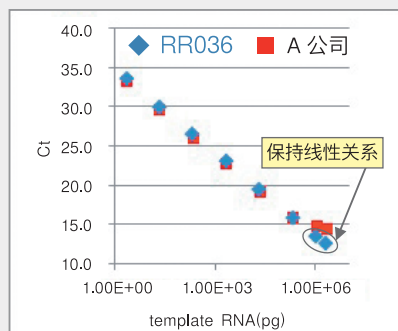
- 反转录反应仅需 **15分钟**即可完成
使用延伸能力强的PrimeScript™ RTase, 仅需15分钟即可合成Real Time PCR用模板cDNA
- 在宽广的浓度范围内呈良好的线性关系
可对1 pg~1 μg的Total RNA进行稳定的反转录反应(10 μl反应体系)。在宽广的浓度范围内可获得良好的线性关系。
- 使用2种引物可合成适用于Real Time PCR的cDNA
RR037和预混型RR036使用Oligo dT Primer和Random 6 mers, 合成的cDNA偏差很小。不论距离polyA近或远的基因, 都可高效进行Real Time PCR检测。

■ 反转录效率高, 在宽广的浓度范围内呈线性关系

使用PrimeScript™ RT系列及A公司、B公司的反转录试剂盒, 分别按照各公司推荐的条件进行了反转录反应, 对qPCR标准曲线的线性关系和反转录效率进行了比较。

结果显示: PrimeScript™ RT系列可在短时间内从低浓度至高浓度高效合成cDNA。

(Takara Bio Inc.比较结果)



	RR036 RR037	A公司制品	B公司制品
反应条件	37°C 15分	25°C 10分钟 42°C 60分钟	37°C 15分钟
	85°C 5秒	85°C 5分钟	98°C 5分钟
反应时间	约15分钟	约75分钟	约20分钟

- 反转录反应 (20 μl反应体系)
 - 模板: 2 pg~2 μg HL60 Total RNA
- qPCR (25 μl反应体系)
 - 试剂: TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A)
 - 模板: 反转录反应液 各2 μl
 - 目的基因: *RPLP1*
 - 引物: 引物设计合成验证一条龙服务
 - qPCR仪: Thermal Cycler Dice™ Real Time System II (Code No. TP900)

反转录反应

去除基因组DNA后进行2 step Real Time RT-PCR反应专用反转录试剂

PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)

适用于 Total RNA 中残留有基因组DNA的 Real Time 实验体系!

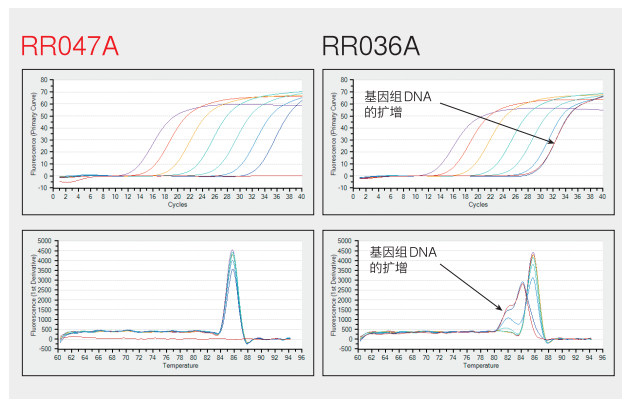
Code No.	包装量
RR047Q	20 μl反应x10 次
RR047A	20 μl反应x100 次
RR047B(Ax4)	20 μl反应x400 次

- 使用试剂盒中自带的gDNA Eraser即可高效去除残留的基因组DNA
- 仅需42°C、2分钟即可去除基因组DNA! 反转录反应需15分钟!

■ 基因组DNA处理能力的验证

【方法】

将混有一定量基因组DNA的Total RNA梯度稀释后作为模板,使用本制品和PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)(Code No. RR036A)进行反转录反应后再进行qPCR反应,并对扩增结果进行了比较。

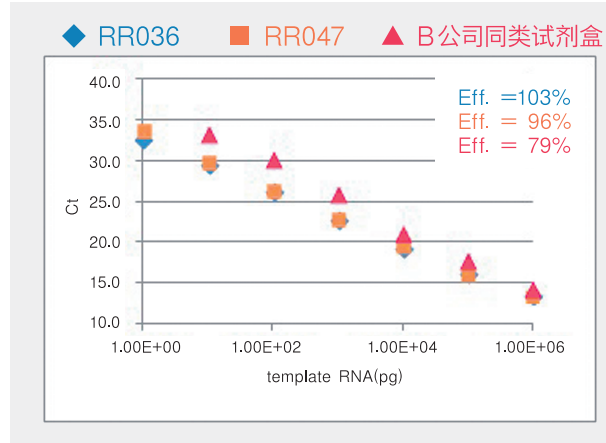


- 模板 : HL60 Total RNA (0.1 pg、10 pg、100 pg、1 ng、10 ng、100 ng、1 μg) + Human genomic DNA 1 ng
- 反转录反应: RR047A和RR036A
使用各自推荐的反应条件
- qPCR : TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A)
- qPCR模板: 反转录反应液 各2 μl
- 目的基因 : RPLP1
- 引物 : 引物设计合成验证一条龙服务
(内含子片段大小: 129 bp)
- qPCR仪 : Thermal Cycler Dice™ Real Time System // (Code No. TP900)

【结果】

以混有基因组DNA的Total RNA为模板时,使用本制品中含有的gDNA Eraser处理后,完全去除基因组DNA,只获得cDNA来源的扩增产物。

■ cDNA合成效率的比较



	RR047	B公司同类试剂盒
DNA 去除反应	42°C 2分钟	37°C 5分钟
反转录反应	37°C 15分钟	37°C 15分钟
	85°C 5秒	50°C 5分钟
反应时间	约17分钟	约30分钟

- 模板 : HL60 Total RNA (0.1 pg、10 pg、100 pg、1 ng、10 ng、100 ng、1 μg)
- 反转录反应: RR036A、RR047A和B公司同类试剂盒
使用各公司推荐的条件
- qPCR : TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A)
- qPCR模板: 反转录反应液 各2 μl
- 目的基因 : RPLP1
- 引物 : 引物设计合成验证一条龙服务
- qPCR仪 : Thermal Cycler Dice™ Real Time System // (Code No. TP900)

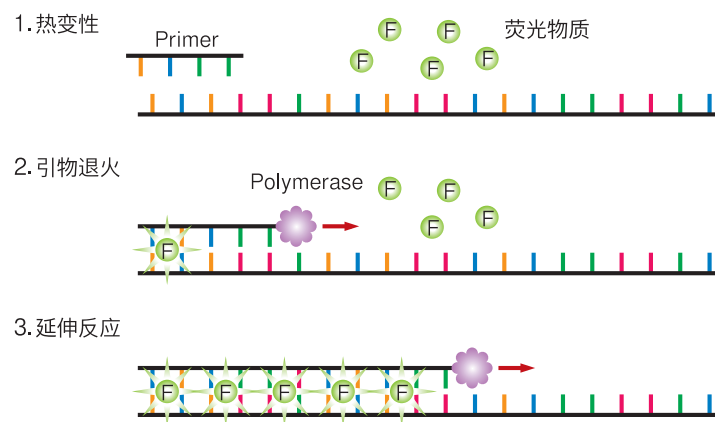
(Takara Bio Inc.比较结果)

TB Green™(嵌合法)检测体系

原理

TB Green™(嵌合法)检测法

TB Green™(嵌合法)能与双链DNA非特异性结合,结合后发出荧光,通过检测反应体系中加入的TB Green™荧光强度,不但可以检测反应体系中的DNA扩增量,同时还能测定到扩增产物的DNA融解温度。



<TB Green™(嵌合法)检测体系> Real Time RT-PCR 用引物的准备

- 引物设计合成验证一条龙服务
- 便于每个通路基因表达解析的 Real Time RT-PCR用Primer Set

PrimerArray® Series

PrimerArray® Disease Series

- ES细胞/iPS细胞的多分化功能相关基因群的表达解析

PrimerArray® Embryonic Stem Cells

- 多能干细胞向成熟肝细胞分化、诱导过程的监控

PrimerArray® Hepatic Differentiation (Human)

引物设计合成验证一条龙服务

本公司承接所有序列公开生物种的Real Time PCR检测用引物设计合成验证一条龙服务。

■ 引物设计合成验证一条龙服务

利用此项服务,不仅可以获得经过实验验证的确保实验成功率的高性能引物,还可以通过我们提供的引物验证报告获得优化的扩增条件,以及适合的试剂组合等信息。这样,既避免了前期摸索实验条件过程中大量的试剂消耗,更节省了大量的宝贵时间,帮助您更加轻松顺利地完成研究项目!

服务流程:

客户填写“Real Time PCR引物探针设计合成验证一条龙服务委托单” → 委托单接收 → 引物设计 → 引物合成 → 引物验证* → 引物以及验证报告寄送

* 若客户委托设计的对象物种是Human、Mouse、Rat、Cow、Dog、Chicken、Arabidopsis、Oryza以外的其它物种,或所研究的基因只有在特定组织、特殊处理等条件下才有表达时,请提供足够量的高纯度核酸模板(浓度大于100 ng/ μ l; 总量不少于3 μ g),以供验证。

Real Time RT-PCR 用引物的准备

便于每个通路基因表达解析的 Real Time RT-PCR 用 Primer Set

PrimerArray® Series PrimerArray® Disease Series

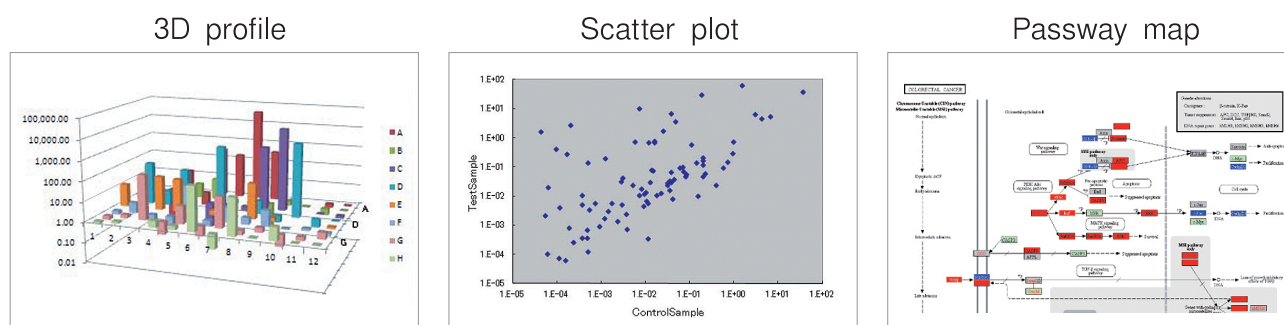
	Code No.	包装量
Human	PH001~PH015	各1 Set
Mouse	PN001~PN015	各1 Set

- 将生物通路相关基因群表达解析用引物集中在1枚96孔板的Primer Set(含8种管家基因用引物)
- 可一次性对88种生物通路的相关基因表达量差异进行筛选
- 所有引物适用于qPCR用预混型试剂TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)(Code No. RR820A/B), 不需要进行PCR条件研讨
- 在通常 Real Time PCR 反应应用Plate中分装检测样品和引物的Master Plate, 可使用的仪器范围宽广

■ 使用专用解析工具可简单地将相对定量结果制作成图表

结果分析时可免费从Takara Bio网站下载「PrimerArray® Analysis Tool Ver.2.2」,或利用Thermal Cycler Dice™ Real Time System系列的相对定量分析软件「Multiplate RQ」。

【使用PrimerArray® Analysis Tool的分析界面例】



■ 制品一览

<PrimerArray® Series>

分类	Code No.	
	Human	Mouse
Cytokine-cytokine receptor interaction	PH001	PN001
Cell cycle	PH002	PN002
Cell adhesion molecules	PH003	PN003
Jak-STAT signaling pathway	PH004	PN004
Natural killer cell mediated cytotoxicity	PH005	PN005
Axon guidance	PH006	PN006
Focal adhesion	PH007	PN007
T cell receptor signaling pathway	-	PN008
TGF-beta signaling pathway	PH009	PN009
Wnt signaling pathway	PH010	PN010

<PrimerArray® Disease Series>

分类	Code No.	
	Human	Mouse
Colorectal Cancer & Pancreatic Cancer	PH011	PN011
Prostate Cancer & Melanoma	PH012	PN012
Small Cell Lung Cancer & Non-Small Cell Lung Cancer	PH013	PN013
Asthma & Rheumatoid arthritis	PH014	PN014
Diabetes mellitus, Type I & Type II	PH015	PN015

※实际搭载的基因信息请在网站的PrimerArray® Series确认。

■ 包装量

1 well的包装量:

Forward & Reverse primer mix(各2.5 μM) 50 μl

※利用Thermal Cycler Dice™ Real Time System解析时

(25 μl反应体系)相当于12次反应量。

■ 包装形式(形态)

用Rubber mat(橡胶垫)密封的已分装引物的96孔板。

Real Time RT-PCR 用引物的准备

ES细胞 / iPS细胞的多分化功能相关基因群的表达解析

PrimerArray® Embryonic Stem Cells

	Code No.	包装量
Human	PH016	1 Set
Mouse	PN016	1 Set

多能干细胞向成熟肝细胞分化、诱导过程的监控

PrimerArray® Hepatic Differentiation (Human)

	Code No.	包装量
Human	PH017	1 Set

- 将用于表达分析的干细胞分化和自我复制能力的相关基因, 以及向肝细胞的分化、诱导过程的相关基因集中在1枚96孔板中, 制成Primer Set(含8种管家基因用引物)
- 使用专用分析工具可简单地将相对定量结果制作成图表

■ 解析工具

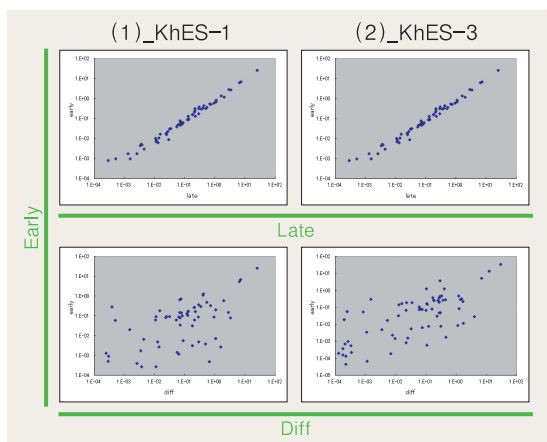
结果分析时可免费从Takara Bio网站下载「PrimerArray® Analysis Tool for Embryonic Stem Cells」, 或利用Thermal Cycler Dice™ Real Time System系列的相对定量分析软件「Multiplate RQ」。

■ 实验例

以人ES细胞株KhES-1和KhES-3的Early passage (Early)、Late passage (Late)、Differentiated (Diff) 3种不同阶段的培养细胞提取的RNA为模板, 对干细胞相关基因的表达差异进行了分析。

ES细胞株间的比较分析(PH016)

<基因表达图谱的分析>



- 模板 : 各ES细胞来源的Total RNA
- 反转录反应 : PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) (Code No. RR036A)
- qPCR : TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A)
- qPCR模板 : 反转录反应液 各0.4 μl (相当于20 ng Total RNA)
- Primer : 本制品 (Code No.PH016)
- qPCR仪 : Thermal Cycler Dice™ Real Time System II (Code No. TP900)
- 解析工具 : PrimerArray® Analysis Tool for Embryonic Stem Cells

2株人ES细胞的基因表达图谱中, Early vs Late表达差异小, Diff表达差异大。表明ES细胞株间基因表达存在若干差异。通过确认多功能干细胞的特异性基因表达, 本制品可作为一种品质评价指标。

■ 包装量

1 well的包装量:

Forward & Reverse primer mix(各2.5 μM) 50 μl

※ 利用Thermal Cycler Dice™ Real Time System解析时(25 μl反应体系)相当于12次反应量。

■ 包装形式(形态)

用Rubber mat(橡胶垫)密封的已分装引物的96孔板。



<TB Green™(嵌合法)检测体系> Real Time PCR

2 Step Real Time RT-PCR 用

- 快速反应试剂(延伸时间10秒)

TB Green™ Fast qPCR Mix

- 可对广泛范围的目的基因进行高特异性反应的标准试剂

TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)

- 高反应特异性

TB Green™ Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time)

- 推荐用于GC Rich目的基因&基因组DNA的扩增

TB Green™ Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)

- 粗提样品进行Real Time PCR分析的反应体系请尝试使用

MightyAmp™ for Real Time (TB Green™ Plus)

1 Step Real Time RT-PCR 用

- 添加了辅助蛋白可有效抑制非特异性扩增

One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit
(Perfect Real Time)

- 快速反应型、重视扩增效率的试剂盒

One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit
(Perfect Real Time)

- 兼具扩增效率和特异性

One Step TB Green™ PrimerScript™ RT-PCR Kit II
(Perfect Real Time)

Real Time PCR试剂 (2 step RT-PCR)

采用改良型酶进一步实现了快速qPCR反应!

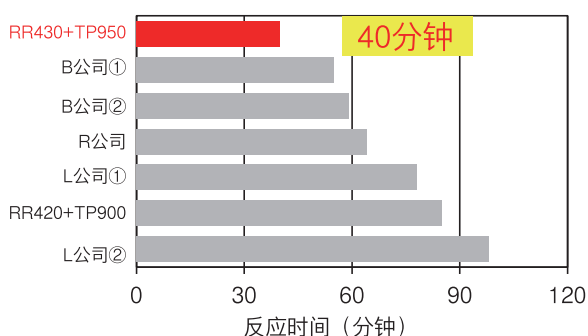
TB Green™ Fast qPCR Mix

Code No.	包装量
RR430S	50 μl反应x40 次
RR430A	50 μl反应x200 次
RR430B(Ax2)	50 μl反应x400 次

- 延伸时间为10秒, 缩短了qPCR反应时间
- 快速反应条件下, 也能实现高通用性和特异性

■ 反应时间的比较

使用各公司PCR仪, 在各自推荐的试剂和反应条件下进行PCR反应, 对PCR反应和融解曲线分析的总反应时间进行了测量, TB Green™ Fast qPCR Mix可在40分钟内完成含曲线分析的qPCR解析。

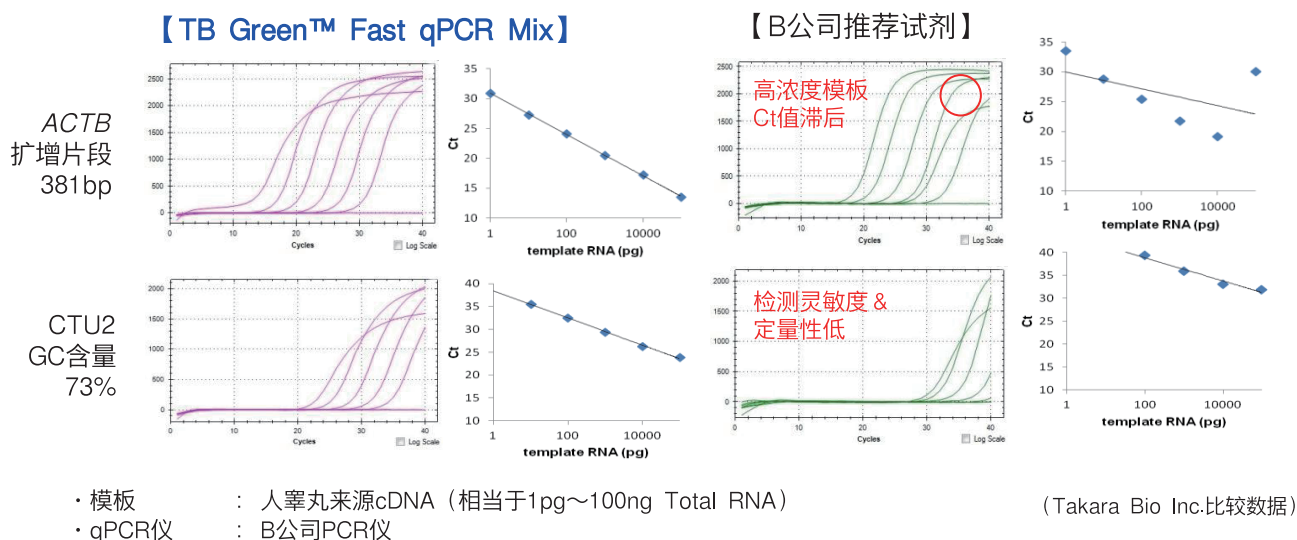


(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 通用性和特异性

对于使用其他公司试剂很难进行定量PCR的靶基因, 使用TB Green™ Fast qPCR Mix可获得定量性、检测灵敏度都良好的扩增结果, 证实即使在快速qPCR条件下也具有较高的通用性。此外, 通过酶和反应体系的改善, 也大幅抑制了引物二聚体及非特异性扩增的出现频率。

扩增片段 > 200 bp 的靶基因、及 GC Rich 靶基因的扩增



Real Time PCR试剂 (2 step RT-PCR)

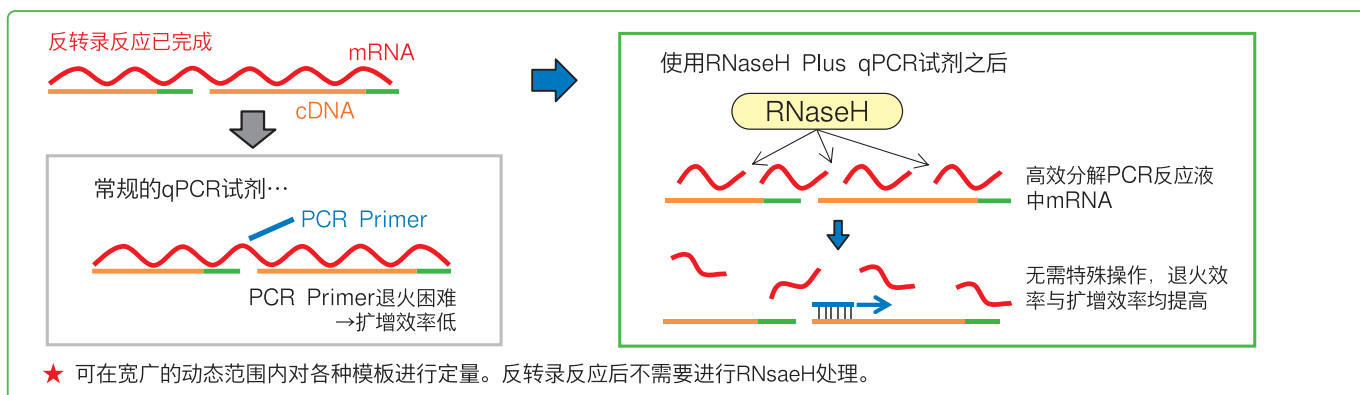
可对广泛范围的目的基因进行高特异性反应的标准试剂

TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)

Code No.	包装量
RR820Q	50 μl 反应 x 40 次
RR820A	50 μl 反应 x 200 次
RR820B(Ax2)	50 μl 反应 x 400 次

- 试剂中预先添加了耐热性RNaseH(Tli RNaseH), 定量准确性更高
- 可在广泛的动态范围内对各种模板进行定量

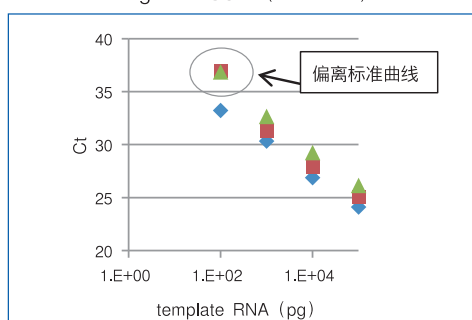
2×Premix 试剂中添加了耐热性RNaseH



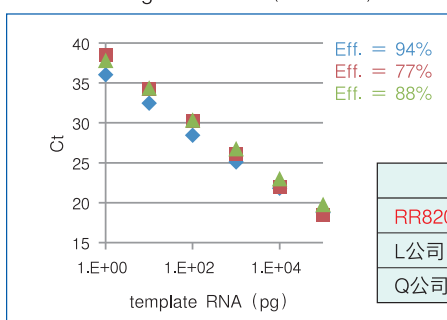
制品特点

RR820 反应特异性高, 同其他公司制品相比, 可在短时间内进行高效、稳定地扩增

Target: *PLSCR3* (GC 67%)



Target: *ATP5F1* (GC 67%)



	延伸时间	反应时间
RR820	30秒 (2 step)	1hr 25min
L公司	60秒 (2 step)	2hr 1min
Q公司	30秒 (3 step)	2hr 13min

(Takara Bio Inc.比较结果)

模板: 由人睾丸获得cDNA (total RNA相当于 1 pg~100 ng)

qPCR仪器: Thermal Cycler Dice Real Time System II

也提供大包装制品

※包装量: 50 μl 反应体系的使用次数

制品名称	Code No.	规格	包装量※
TB Green™ Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus), Bulk	RR820L	5 ml×1	200 次
	RR820W(Lx5)	5 ml×5	1,000 次
TB Green™ Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus), Bulk	RR420L	5 ml×1	200 次
	RR420W(Lx5)	5 ml×5	1,000 次

预先添加了ROX Reference Dye的Premix型

TB Green™ Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus), ROX plus	RR82LR	5 ml×1	200 次
	RR82WR(LRx5)	5 ml×5	1,000 次
TB Green™ Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus), ROX plus	RR42LR	5 ml×1	200 次
	RR42WR(LRx5)	5 ml×5	1,000 次

注: Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific公司)等使用ROX Reference Dye II用于PCR仪荧光信号校正时, 请使用ROX Reference Dye附带型。详情请参阅本公司网站。

Real Time PCR试剂 (2 step RT-PCR)

反应特异性高

TB Green™ Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR091Q	50 μl反应x40 次
RR091A	50 μl反应x200 次
RR091B(Ax2)	50 μl反应x400 次

- 添加了辅助蛋白质, 实现了较高的反应特异性
- 如果为引物二聚体及非特异性扩增而烦恼, 请务必尝试使用本制品!

推荐用于GC Rich目的基因&基因组DNA的扩增

TB Green™ Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR071Q	50 μl反应x40 次
RR071A	50 μl反应x200 次
RR071B(Ax2)	50 μl反应x400 次

- 通过添加辅助蛋白质和对反应液组分改良, 大幅提高GC含量为60~70%的难以扩增目的基因的反应性能。
- 推荐用于含 CpG 岛的基因组DNA为模板的PCR反应。

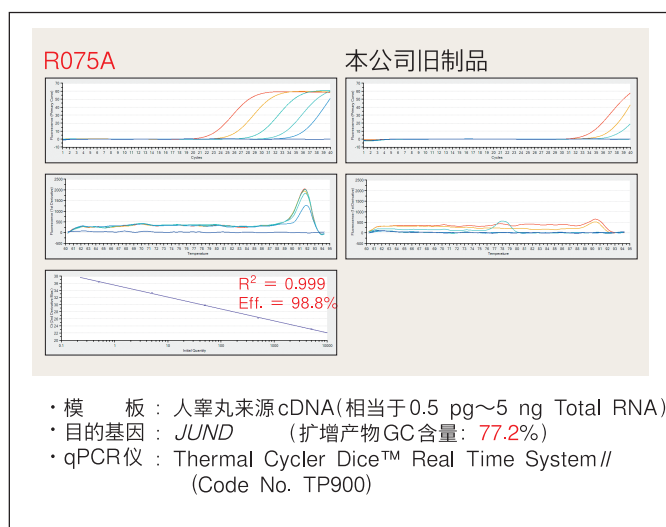
粗提样品进行Real Time PCR分析的反应体系请尝试使用

MightyAmp™ for Real Time (TB Green™ Plus)

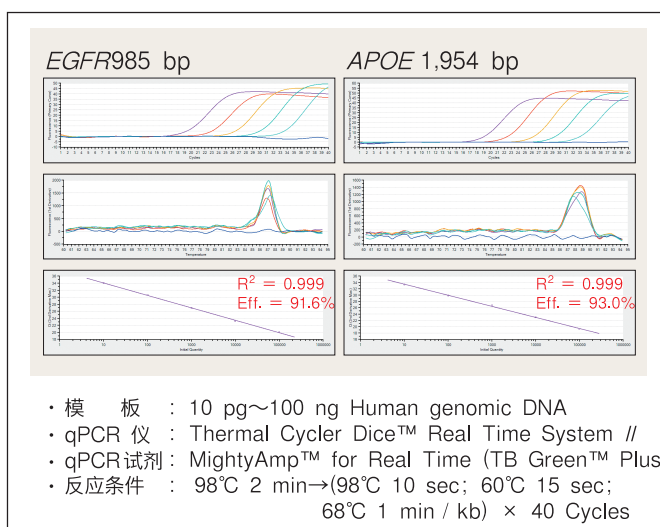
Code No.	包装量
R075A	50 μl反应x200 次
R075B(Ax2)	50 μl反应x400 次

- 用于粗提样品及GC含量超过70%的目的基因等难以扩增的实验体系
- 可直接使用End Point PCR用引物(扩增片段大小: ~2 kb)!

■ GC含量>70%目的基因的扩增



■ 使用End Point PCR用引物进行PCR反应



【注意】 MightyAmp™ for Real Time (TB Green™ Plus) 是用于特殊用途而研发的产品。标准检测样品和目的基因进行Real Time PCR分析时请使用TB Green™ Premix系列制品(Code No.RR820A/RR420A/RR091A/RR071A)。

1 Step Real Time RT-PCR用试剂

添加了辅助蛋白质可有效抑制非特异性扩增

One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR096A	50 μl反应x100 次
RR096B(Ax5)	50 μl反应x500 次

快速反应型、重视扩增效率的试剂盒

One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR066A	50 μl反应x100 次
RR066B(Ax5)	50 μl反应x500 次

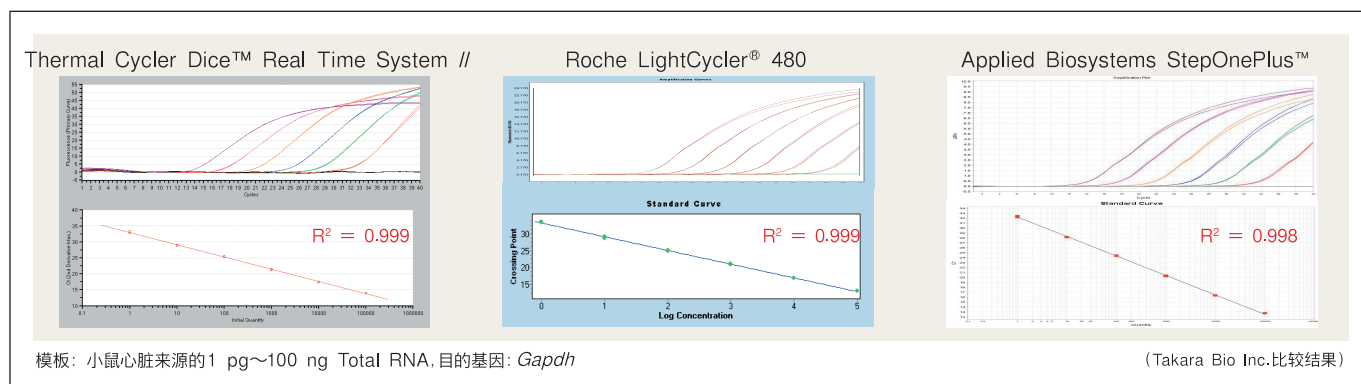
兼具扩增效率和特异性

One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit II(Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR086A	50 μl反应x100 次
RR086B(Ax5)	50 μl反应x500 次

- 反转录反应和Real Time PCR反应在同一反应管进行。操作简便!
适用于检测样品数量多及需要防止污染的基因检测。
- 可高灵敏度地检测低表达mRNA!
同2 step RT-PCR相比,1 step RT-PCR可使用的Total RNA量多,模板损耗少,可有效对低表达mRNA进行分析。有利于特定基因的高灵敏度检出。

■ 使用各公司Real Time PCR仪的反应例



■ 短时间完成解析

使用Thermal Cycler Dice™ Real Time System //

	RR096	A公司制品	D公司制品
RT	42°C 5分钟	48°C 30分钟	50°C 30分钟
Preheat	95°C 10秒 (Denature)	95°C 10分钟 (Activation)	95°C 10分钟 (Activation)
qPCR	95°C 5秒 60°C 30秒 40 cycles	95°C 15秒 60°C 60秒 40 cycles	94°C 15秒 55°C 30秒 72°C 30秒 40 cycles
解析时间	1小时40分钟	2小时30分钟	2小时40分钟

(Takara Bio Inc.比较结果)

■ 使用区别

- One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Code No.RR096A/B)
 - ◆ TB Green™ 1 step RT-qPCR的推荐试剂
 - ◆ 添加了新反转录酶PrimeScript™ PLUS RTase和辅助蛋白质,可进行高特异性PCR反应。
- One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit (Code No. RR066A/B)
 - ◆ 延伸速度快的快速反应型
 - ◆ 可扩增比通常片段长的目的基因
- One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit II (Code No.RR086A/B)
 - ◆ 组分为2×buffer和premix酶,操作简便
 - ◆ buffer经过改良,反应特异性得到改善

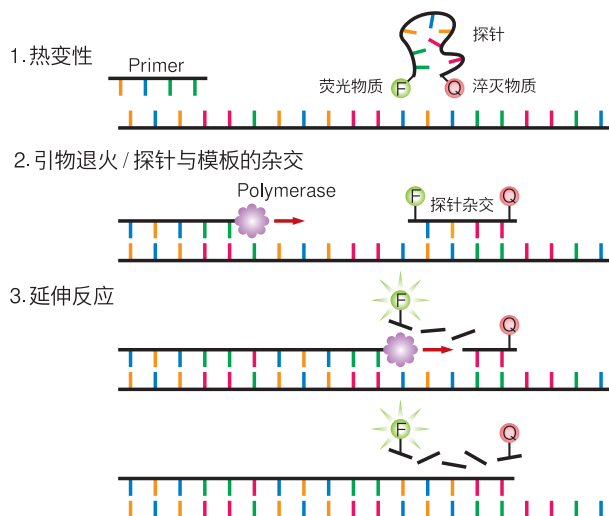
探针法检测体系

原理

探针法

探针法是使用5'端带有荧光基团（如：FAM等），3'端带有淬灭基团（如：TAMRA等）的探针进行荧光检测的方法。当探针完整时，5'端的荧光基团发射的荧光被3'端淬灭基团淬灭，不能发出荧光。而当探针被分解后，5'端的荧光物质便会游离出来，发出荧光。

当PCR反应液中加入荧光探针后，在PCR反应的退火过程中，荧光探针便会和模板杂交。进一步在PCR反应的延伸过程中，*Taq* DNA聚合酶的5'→3' Exonuclease活性可以分解与模板杂交的荧光探针，游离的荧光物质便会发出荧光。通过检测反应体系中的荧光强度，可以达到检测PCR产物扩增量的目的。



< 探针法检测体系 > 准备引物和探针

- 引物探针设计合成验证一条龙服务

< 探针法检测体系 > Real Time RT-PCR

2 step Real Time RT-PCR用

- 探针法检出用qPCR试剂增强版

Probe qPCR Mix

- 探针法检出专用试剂

***Premix Ex Taq™* (Probe qPCR)**

1 step Real Time RT-PCR用

- 适用于探针法检测的1 Step Real Time RT-PCR用试剂

**One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit
(Perfect Real Time)**

引物探针设计合成验证一条龙服务

本公司承接所有序列公开生物种的 Real Time PCR 检测用引物探针设计合成验证一条龙服务。

■ 引物探针设计合成验证一条龙服务

利用此项服务，不仅可以获得经过实验验证的确保实验成功率的高性能引物探针，还可以通过我们提供的引物探针验证报告获得优化的扩增条件，以及适合的试剂组合等信息。这样，既避免了前期摸索实验条件过程中大量的试剂消耗，更节省了大量的宝贵时间，帮助您更加轻松顺利地完成研究项目！

服务流程：

客户填写“Real Time PCR 用引物探针设计合成服务委托单”→ 委托单接收 → 引物探针设计 → 引物或引物探针合成 → 引物探针验证* → 引物探针以及验证报告寄送

* 若客户委托设计的对象物种是 Human、Mouse、Rat、Cow、Dog、Chicken、Arabidopsis、Oryza 以外的其它物种，或所研究的目的基因只有在特定组织、特殊处理等条件下才有表达时，请提供足够量的高纯度核酸模板（浓度大于 100 ng/μl；总量不少于 3 μg），以供验证。

探针法检测用qPCR试剂增强版

用于快速反应的探针法检出试剂

Probe qPCR Mix

Code No.	包装量
RR391S	50 μl 反应 x40 次
RR391A	50 μl 反应 x200 次
RR391B(Ax5)	50 μl 反应 x400 次

● 增强了对PCR 阻害物的抵抗性

在进行食品和环境来源样品的靶基因DNA 检测及基因分型时, 受PCR 反应阻害物影响导致检测灵敏度下降及假阴性结果困扰的研究人员请一定尝试使用!

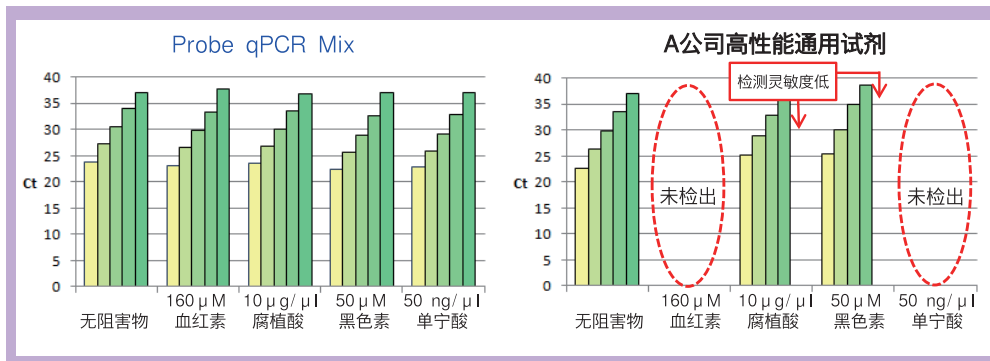
● 适用于快速qPCR 反应条件

已证实使用各公司qPCR 扩增仪均可以进行良好的扩增反应。即使在反应时间为40 分钟快速PCR 反应条件下也可获得重复性高的PCR 结果。

■ 各种PCR 阻害物对Ct 值的影响评价

已知血红素(血液成分)、腐植酸(土壤成分)、黑色素(皮肤和毛发成分)、单宁酸(植物成分)对PCR 反应有很强的阻害作用, 对在PCR 反应中添加PCR 阻害物的反应体系和未添加PCR 阻害物的反应体系进行了Ct 值比较。

本制品同其他公司同类制品相比, 对PCR 阻害物的抵抗性显著提高, 使用目前为止不能获得良好反应结果的检测样品也能够获得高成功率、高检测灵敏度的PCR 反应。



模板: HL60基因组DNA

- 170 ng
- 17 ng
- 1.7 ng
- 170 pg
- 17 pg/20 μl 反应体系

- 靶基因 : 人 ACTB (使用 Dual Labeled Probe)
- qPCR 扩增仪 : ABI 7500 Fast System
- qPCR 反应条件 : 95°C

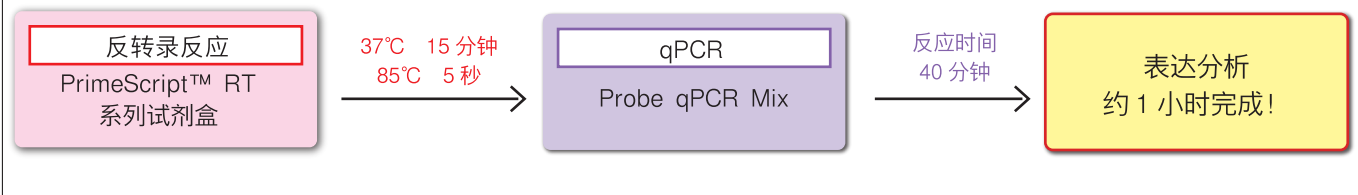
95°C 3 sec. } 40 cycles
60°C 30 sec. }

反应时间: 39分钟

(Takara Bio Inc.比较结果)

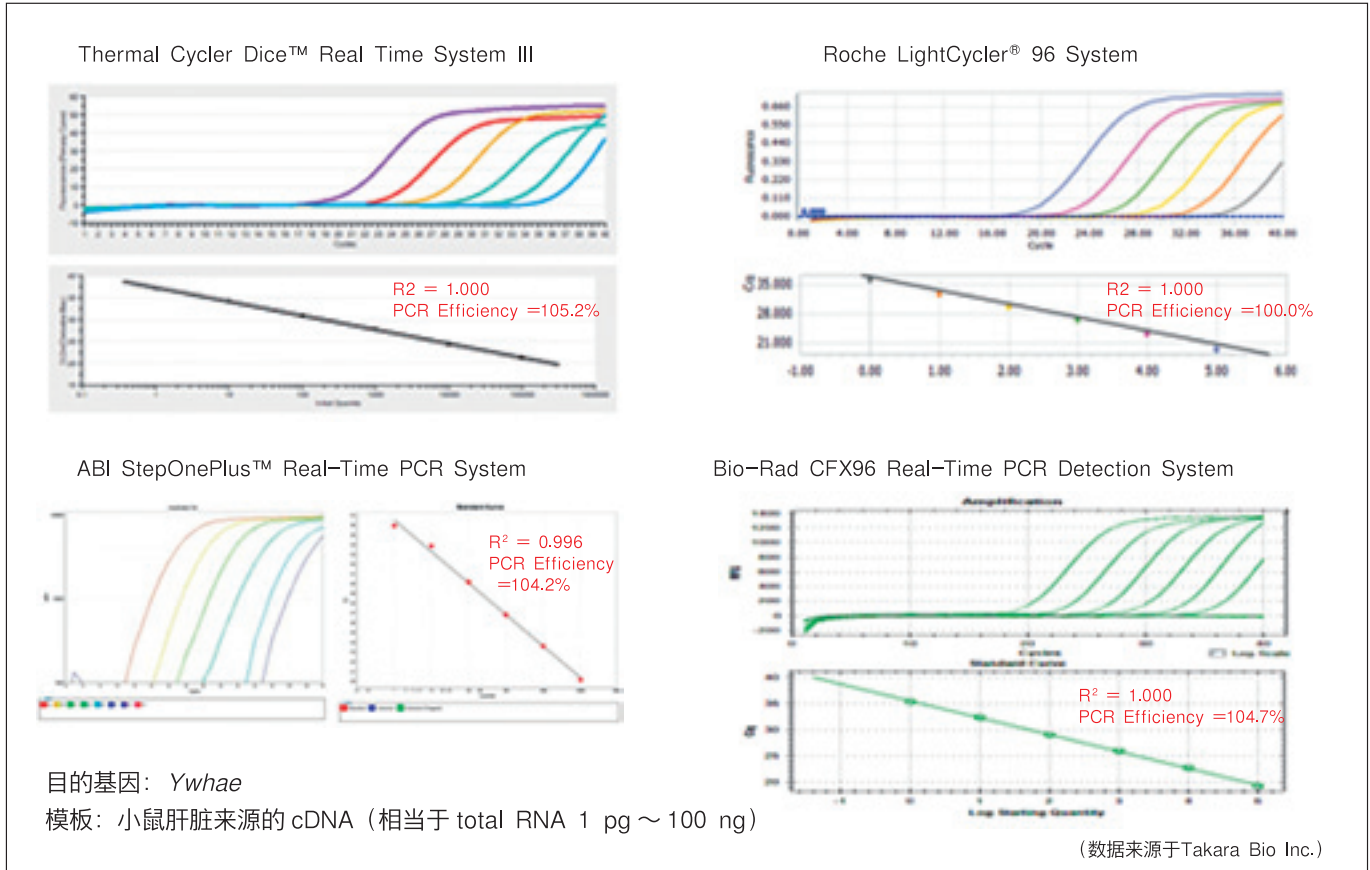
■ 表达分析时间大幅缩短

PrimeScript™ RT 系列试剂盒与该制品组合使用, 可以实现更快速的实验。



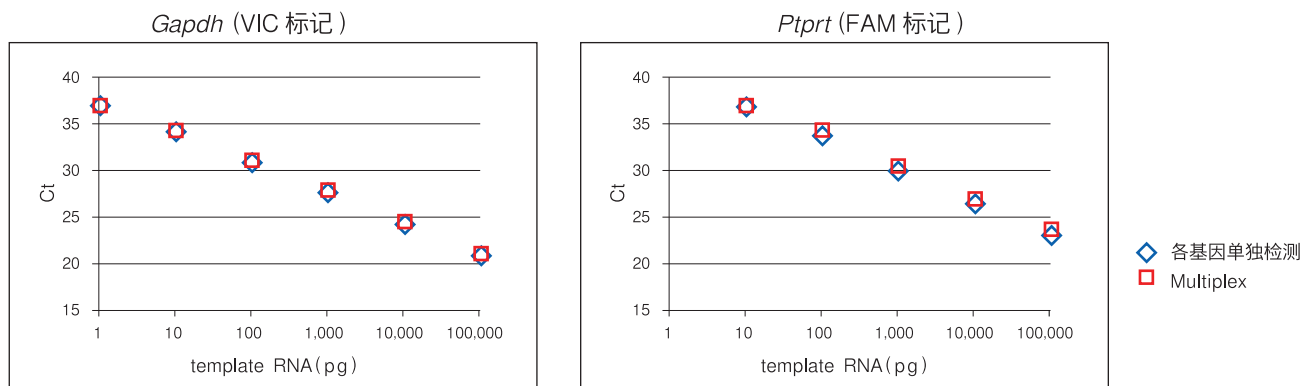
探针法检测用qPCR试剂增强版

■ 在各种Real Time PCR仪上反应稳定



■ multiplex PCR分析实验例

小鼠肝脏来源的cDNA稀释液作为模板，分别单独检测*Gapdh*和*Ptprt*基因，与multiplex qPCR进行比较实验。经过确认，multiplex qPCR与单独检测可获得相同的定量结果。



Primer/probe: Applied Biosystems TaqMan Gene Expression Assays
 模板: 小鼠来源的cDNA (相当于 total RNA 1 pg ~ 100 ng)
 qPCR 仪器: Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System

Real Time PCR试剂 (2 step RT-PCR用)

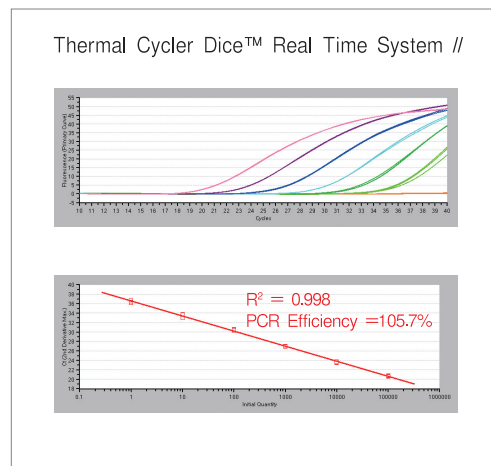
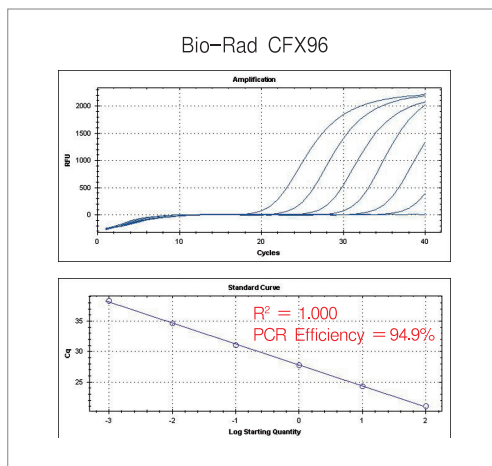
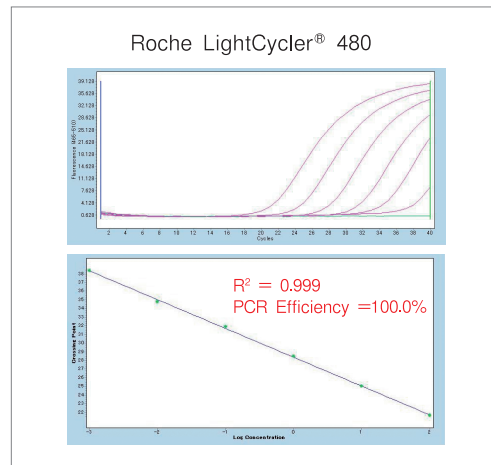
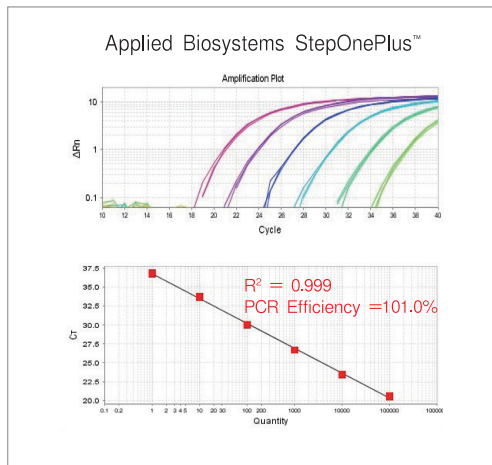
探针法检出专用试剂

Premix Ex Taq™ (Probe qPCR)

Code No.	包装量
RR390Q	50 μl反应x40 次
RR390A	50 μl反应x200 次
RR390B(Ax2)	50 μl反应x400 次

- 高准确性和宽广的使用范围

<在各种Real Time PCR仪上反应稳定>



- 模板 : 小鼠肝脏来源的cDNA(相当于1 pg~100 ng Total RNA)
- 目的基因 : *Ywhae*
- qPCR试剂 : 本制品(Code No. RR390A)

(Takara Bio Inc.比较结果)

1 Step Real Time RT-PCR用试剂

适用于探针法检测的1 Step Real Time RT-PCR用试剂

One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

Code No.	包装量
RR064A	50 μl反应x100 次
RR064B(Ax5)	50 μl反应x500 次

- 1 step反应, 操作简单

适用于样品数量多及需要防止污染的基因检测等

- 可对低表达 mRNA 进行高灵敏度检测

同2 step RT-PCR相比, 1 step RT-PCR可使用的 total RNA 量多, 模板损耗少, 可高效对低表达 mRNA 进行分型。有利于特定基因的高灵敏度检测。

- 同其他公司制品相比, 可在短时间内完成 PCR 分析

RR064

A公司制品

D公司制品

	RR064	A公司制品	D公司制品
RT	42°C 5分钟	48°C 15分钟	50°C 10分钟
Preheat	95°C 10秒 (Denature)	95°C 10分钟 (Activation)	95°C 5分钟 (Activation)
qPCR	95°C 3秒 60°C 25秒 40 cycles	95°C 15秒 60°C 60秒 40 cycles	95°C 10秒 60°C 30秒 40 cycles
解析时间	41分钟	114分钟	60分钟

(Takara Bio Inc.比较结果)

- 模板：小鼠肝脏来源 1 pg~500 ng Total RNA
- 目的基因：*Actb*
- qPCR仪：Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System

- 已确认在各种仪器的反应性能

已证实, RR064使用下面的各种 Real Time PCR 仪器可获得良好的反应性能。

- Applied Biosystems 7300/7500/7500 Fast Real-Time PCR System
- StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)
- LightCycler® 480 (Roche Diagnostics)
- CFX96/MyiQ2 (Bio-Rad Laboratories)
- Thermal Cycler Dice™ Real Time System III/Lite
- Smart Cycler® System / Smart Cycler® II System (Cepheid)

直接对培养细胞进行基因表达分析的新品试剂盒! 也可用于高通量

- 适用于高通量等大量样本的低成本、短时间分析

CellAmp™ Direct TB Green™ RT-qPCR Kit

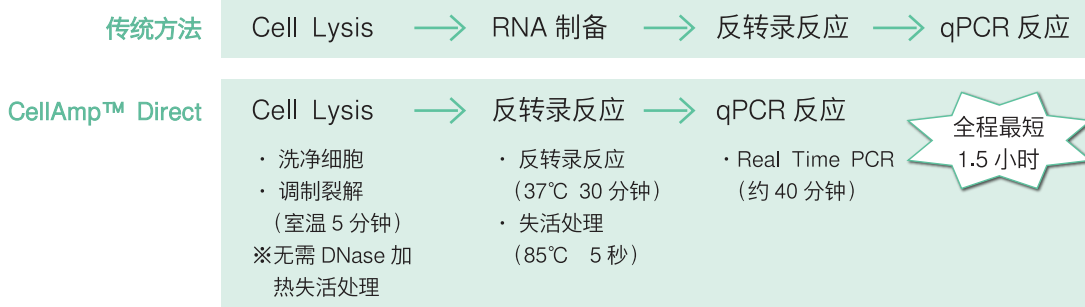
- Probe法直接对培养细胞进行Multiplex Real Time RT-qPCR

CellAmp™ Direct Probe RT-qPCR Kit

CellAmp™ Direct 特长

简单且省时的操作

- 制备的裂解液无需纯化，可直接用于反转录反应。也无需进行 DNase 的加热失活处理。
- 省略 RNA 纯化步骤，可降低操作错误的风险。
- 适用于高通量筛选，从制备裂解液到完成 qPCR 分析最短 1.5 小时内可完成。



含有杂质的裂解液与纯化 RNA 可获得相同的分析结果

- 可应用于 Cell line 化的贴壁细胞和悬浮细胞、原代培养细胞、各种干细胞、iPS 细胞等。
- 裂解液 -20°C 可稳定保存 6 个月。

无需纯化RNA的Real Time RT-PCR

适用于高通量等大量样本的低成本、短时间分析

CellAmp™ Direct TB Green™ RT-qPCR Kit

Code No.	包装量
3735S	Lysis 20 次、RT 20 次 qPCR 100 次(25 μl 反应体系)※1
3735A	Lysis 100 次、RT 100 次 qPCR 500 次(25 μl 反应体系)※1

Probe法直接对培养细胞进行multiplex Real Time RT-PCR

CellAmp™ Direct Probe RT-qPCR Kit

Code No.	包装量
3736S	Lysis 20 次、RT 20 次 qPCR 100 次(25 μl 反应体系)※2
3736A	Lysis 100 次、RT 100 次 qPCR 500 次(25 μl 反应体系)※2

■ 可与纯化的高纯度RNA获得同样的基因表达分析结果

CellAmp™ Direct TB Green™ RT-qPCR Kit(Code No. 3735S/A)

【方法】

- Sample : Jurkat细胞、293细胞、iPS细胞
 Primer : PrimerArray
 -Jurkat细胞 : PrimerArray T cell receptor signaling pathway(Human)
 -293细胞 : PrimerArray Cell cycle(Human)(Code No. PH002)
 -iPS细胞 : PrimerArray Embryonic Stem Cells(Human)
 (Code No. PH016)

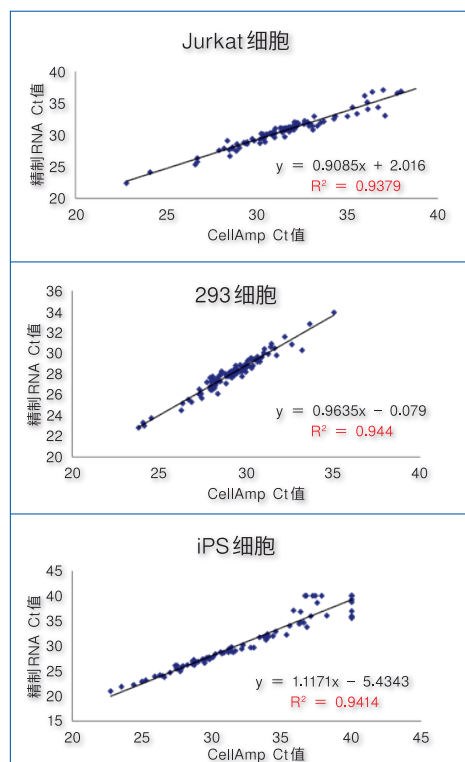
分别回收 1×10^4 细胞, 按照操作流程调制 50 μl 裂解液。然后通过反转录反应和 qPCR 反应进行基因表达分析。对照使用纯化的 total RNA。

【结果】

使用 CellAmp 调制的裂解液与纯化的 total RNA 分别进行基因表达分析, 二者结果的相关性较高。

HeLa 细胞、人皮肤纤维芽细胞 (NHDF) 也获得相同的结果。

※1 试剂盒中的 qPCR 试剂与 TB Green™ Fast qPCR Mix (Code No.RR430S/A/B) 相同, 使用不够时请另行购买。



CellAmp™ Direct Probe RT-qPCR Kit (Code No. 3736S/A)

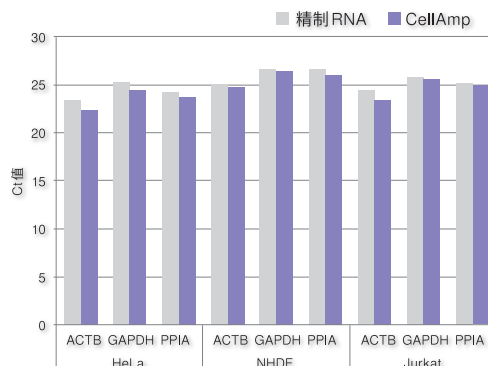
【方法】

Sample: HeLa 细胞、人皮肤纤维芽细胞 (NHDF)、Jurkat 细胞
 分别回收 1×10^4 细胞, 按照操作流程调制 50 μl 裂解液。然后通过反转录反应和 qPCR 反应进行基因表达分析。对照使用纯化的 total RNA。

【结果】

使用 CellAmp 调制的裂解液与纯化的 total RNA 分别进行基因表达分析, 可获得相同的结果。

※2 试剂盒中的 qPCR 试剂与 Probe qPCR Mix (Code No.RR391A/B) 相同, 使用不够时请另行购买。



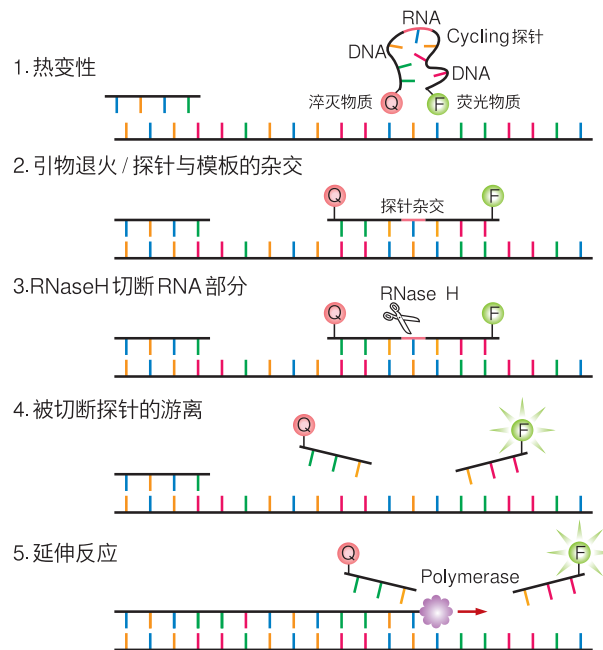
Cycling 探针法检测体系

原理

Cycling 探针

Cycling Probe法是由DNA/RNA嵌合探针与RNase H组合使用的高灵敏度检出法，能够高效率地检出扩增过程中及扩增结束时的目的基因片段。Cycling Probe内部含有RNA碱基，一端标记荧光基团，另一端标记淬灭基团，当探针处于完整状态时，荧光基团发射的荧光被淬灭基团所淬灭，但当探针与扩增产物中的互补序列杂交后，RNase H在RNA碱基处将探针切断，淬灭作用解除，荧光物质发出荧光。通过测定荧光强度，能够实时监控扩增产物量。

如果探针的RNA碱基部分与模板不匹配，RNase H就不能在RNA碱基处将探针切断，所以该检出方法是一种即使一碱基不同也能识别的高特异性检出方法，特别适合于SNP解析。



<Cycling 探针法检测体系> 准备引物和探针

- 引物探针设计合成验证一条龙服务

<Cycling 探针法检测体系> Real Time PCR 用试剂

Cycling 探针法检测专用 Premix 试剂

- 初用者推荐：附带确认 PCR 反应性能的对照用引物和探针

CycleavePCR® Starter Kit

- 重复利用推荐使用(性价比高)

CycleavePCR® Reaction Mix

特定基因检测用试剂盒

Takara Bio为您提供利用探针法的多种 Real Time PCR Kit 和 Real Time RT-PCR kit 进行食物中毒菌等特定基因的检测。

- 试剂盒中含特定基因检测用所必需的探针、引物和 PCR 试剂等

各种 CycleavePCR® Kit 系列

详细信息请浏览 Takara 公司网站

准备 Cycling 引物和探针

引物探针设计合成验证一条龙服务(详见第28页)

Real Time PCR试剂(CycleavePCR®法专用)

Cycling 探针法检测专用 Premix 试剂

初用者推荐: 附带确认PCR反应性能的对照用引物和探针

CycleavePCR® Starter Kit

Code No.	包装量
CY505S	80 次

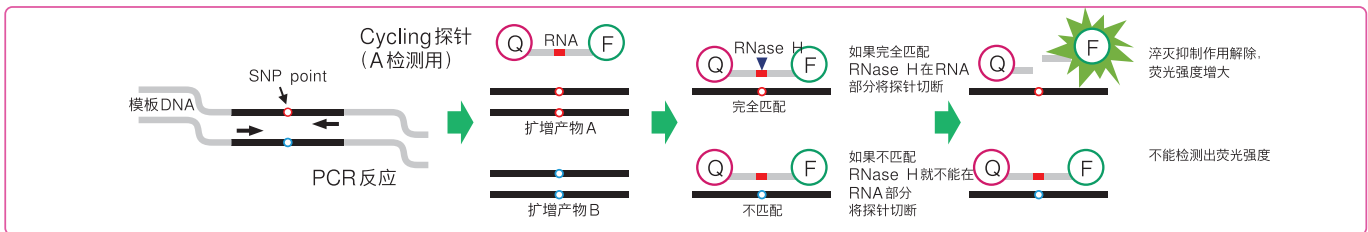
重复利用推荐使用(性价比高)

CycleavePCR® Reaction Mix

Code No.	包装量
CY505A	400 次
CY505B(A×3)	1,200 次

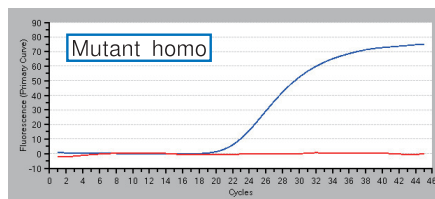
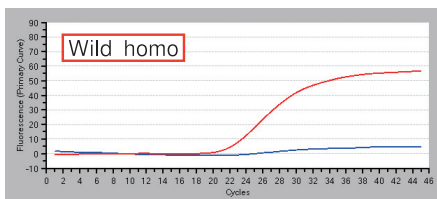
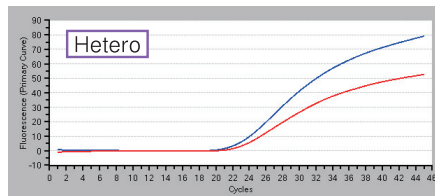
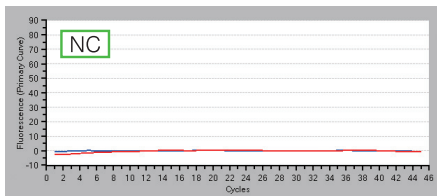
- 2 × Premix 型试剂, 操作简便
- CycleavePCR® Assay Designer (SNPs) 用引物和探针无需优化即可使用

■ SNPs Typing 原理



■ 使用例: CY2C9 (rs1057910) 的检测

- 试剂 : CycleavePCR® Reaction Mix (Code No. CY505A)
- 模板 : 1 pg 含 SNP site (A or C) 各型扩增区域序列的人工合成基因质粒
- 仪器 : Thermal Cycler Dice™ Real Time System //
- 引物和探针: 利用 CycleavePCR® Assay Designer (SNPs) 设计



— Wild型来源的
荧光信号

— Mutant型来源的
荧光信号

Real Time PCR仪

- 具有高性能硬件和操作简单软件的Real Time PCR仪

Thermal Cycler Dice™ Real Time System 系列

III (Code No.TP950)



- 多通道 96 孔型定量 PCR 仪
- 支持单机触屏操作

Lite (Code No.TP700/TP760)



- 多通道 48 孔型定量 PCR 仪
- 采用 LED 光源，使用寿命更长

- 相对定量解析软件

Multiplate RQ (Code No. TP840)

「Multiplate RQ」是对多个微孔板数据进行汇总的相对定量解析软件。根据设定的检测样品信息可自动进行分析，分析结果可视化。

※本软件是 Thermal Cycler Dice™ Real Time System 系列专用软件。Thermal Cycler Dice™ Real Time System III with PC/MRQ (Code No. TP980) 和 Single MRQ (Code No. TP870)、Lite MRQ (Code No. TP760) 标配有此软件。

- 多个孔板、多个检测样品，多个基因的相对定量解析更方便
- 可使用多个内参基因(管家基因)进行校正
- 可一次性分析多个实验数据
- 可用于标准曲线法或 $\Delta\Delta Ct$ 法
- 计算方法多种多样(可用柱形图表示)
- Primer Array® 系列的分析更方便

【License】

(1) Real-Time PCR Quantification Method : The purchase of this product includes a limited, non-transferable license for all fields other than human or veterinary in vitro diagnostics under specific claims of U.S. Patent Nos. 6,174,670, 6,569,627, 6,303,305, and 6,503,720, owned by the University of Utah Research Foundation and licensed to Idaho Technology, Inc. and Roche Diagnostics GmbH

Thermal Cycler Dice™ Real Time System III

多通道96孔型

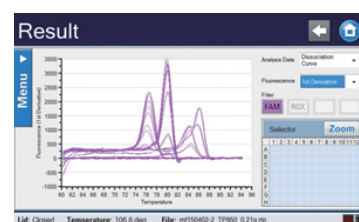
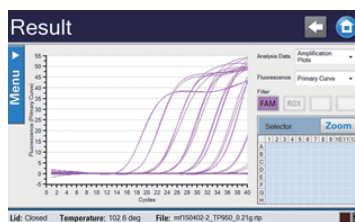
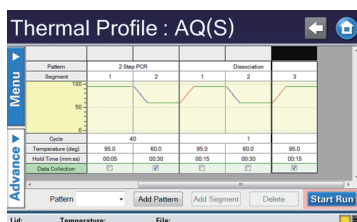
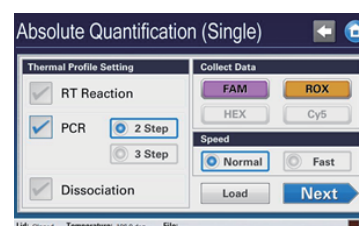
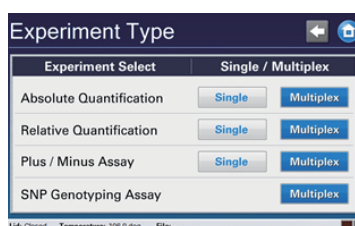
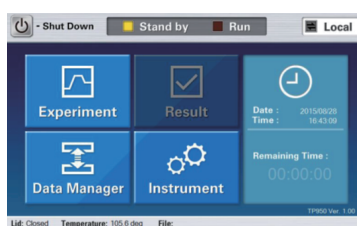
Code No.	包装量
TP950(本机)	1 set
TP970(本机+PC)	1 set
TP980(本机+PC+MRQ)	1 set

Thermal Cycler Dice™ Real Time System *Lite*

多通道48孔型

Code No.	包装量
TP700/TP760(Lite MRQ)	1 set

■ Thermal Cycler Dice™ Real Time System III可实现简单、快捷的单机操作



■ 规格

产品名称	Code No.	搭载滤镜	可选择滤镜	样品容器、容量	加热块 (well)	Multiplate RQ	
Thermal Cycler Dice™ Real Time System	III	TP950	·FAM	0.1 ml tube、plate	96	—	
	III with PC	TP970				·HEX / VIC	—
	III with PC/MRQ	TP980				·Cy5	○
	Lite	TP700	·ROX	0.2 ml tube、plate	48	—	
	Lite MRQ	TP760				○	

※ 各仪器耗材 (tube、plate) 请浏览 Takara 官网。

microRNA定量研究的高性价比选择

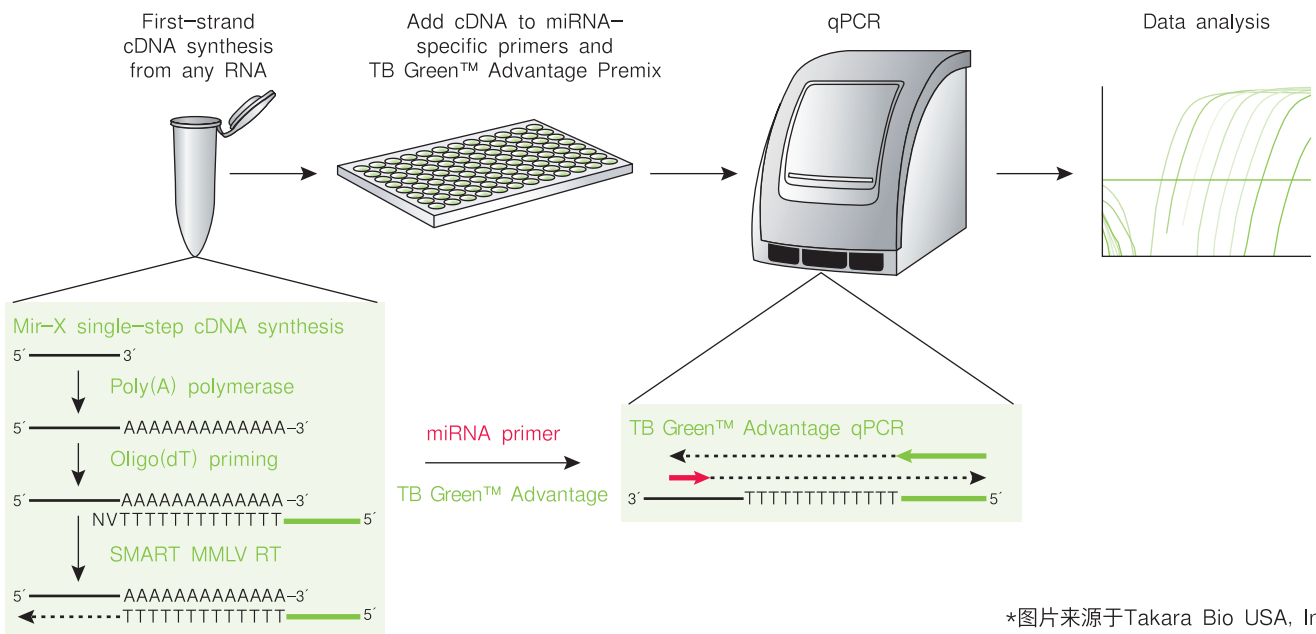
Clontech Mir-X™ microRNA 定量系统

microRNA是一类被广泛关注的非编码RNA，长度为22nt左右，对植物和动物的基因表达有着非常重要的调控作用。Clontech提供用于microRNA定量检测的Mir-X™系列产品，具备高效率、低价格的特点，能够满足大部分研究人员的实验需要。

产品特点

- 1 通用的加A尾反转录原理，一次反转样品中的不同microRNA
- 2 简单的一步法cDNA合成系统，无需复杂的操作
- 3 可使用同一RNA模板进行不同microRNA的定量检测，节省样品用量
- 4 试剂盒附带通用的PCR下游引物，只需设计特异性的上游引物即可
- 5 可对低至50 copies的microRNA进行检测，灵敏度高
- 6 产品有独立的反转录试剂盒和反转定量二合一的试剂盒可供选择，灵活性强

制品原理



类型	制品名称	Code No.	包装量
cDNA合成和microRNA定量二合一试剂盒	Mir-X™ miRNA qRT-PCR TB Green™ Kit	638314	200 Rxns
		638316	600 Rxns
microRNA一步法cDNA合成试剂盒	Mir-X™ miRNA First Strand Synthesis Kit	638313	20 Rxns
		638315	60 Rxns

【制品一览表-Takara】

制品名称	Code No.	包装量
■ 制备RNA/DNA		
TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit	9767	50 次
RNAiso Plus	9108Q	25 ml
	9108	100 ml
	9109	200 ml
RNAiso Blood	9112Q	25 ml
	9112	100 ml
	9113	200 ml
CellAmp™ Direct RNA Prep Kit for RT-PCR (Real Time)	3732	200 次
CellAmp™ Whole Transcriptome Amplification Kit (Real Time) Ver.2	3734	100 次
TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0	9765	50 次
TaKaRa MiniBEST Plant RNA Extraction Kit	9769S	10 次
	9769	50 次
TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0	9766	50 次
DNAiso Reagent	9770Q	25 ml
	9770A	100 ml
TaKaRa MiniBEST Plant Genomic DNA Extraction Kit	9768S	10 次
	9768	50 次
TaKaRa MiniBEST Whole Blood Genomic DNA Extraction Kit	9781S	10 次
	9781	50 次
TaKaRa MiniBEST Bacteria Genomic DNA Extraction Kit Ver.3.0	9763	50 次
TaKaRa MiniBEST FFPE DNA Extraction Kit	9782	50 次
TaKaRa BioMasher Standard (Sterile)	9791A	50 次

■ 反转录反应

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)	RR037Q	20 次
	RR037A	200 次
	RR037B (A×4)	800 次
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)	RR036Q	20 次
	RR036A	200 次
	RR036B (A×4)	800 次
PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)	RR047Q	10 次
	RR047A	100 次
	RR047B (A×4)	400 次

制品名称	Code No.	包装量
■ TB Green™ (嵌合法) 检出 Real Time PCR 试剂		
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ II (Tli RNaseH Plus)	RR820Q	40 次
	RR820A	200 次
	RR820B (A×2)	400 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ II (Tli RNaseH Plus), Bulk	RR820L	200 次
	RR820W (L×5)	1,000 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ II (Tli RNaseH Plus), ROX plus	RR82LR	200 次
	RR82WR (LR×5)	1,000 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ (Tli RNaseH Plus)	RR420Q	40 次
	RR420A	200 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ (Tli RNaseH Plus), Bulk	RR420B (A×2)	400 次
	RR420L	200 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ (Tli RNaseH Plus), Bulk	RR420W (L×5)	1,000 次
	RR42LR	200 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ (Tli RNaseH Plus), ROX plus	RR42WR (LR×5)	1,000 次
	RR091Q	40 次
TB Green™ <i>Premix DimerEraser</i> ™ (Perfect Real Time)	RR091A	200 次
	RR091B (A×2)	400 次
TB Green™ <i>Premix Ex Taq</i> ™ GC (Perfect Real Time)	RR071Q	40 次
	RR071A	200 次
	RR071B (A×2)	400 次
MightyAmp™ for Real Time (TB Green™ Plus)	R075A	200 次
	R075B (A×2)	400 次
TB Green™ Fast qPCR Mix	RR430S	40 次
	RR430A	200 次
	RR430B (A×2)	400 次

■ TB Green™ (嵌合法) 检测 Real Time RT-PCR 用引物

PrimerArray® 系列	请参阅本手册的第19~20页
-----------------	----------------

■ TB Green™ (嵌合法) 检测 1 step Real Time RT-PCR 用

One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	RR096A	100 次
	RR096B (A×5)	500 次
One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	RR066A	100 次
	RR066B (A×5)	500 次
One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit II (Perfect Real Time)	RR086A	100 次
	RR086B (A×5)	500 次

【制品一览表—Takara】续前页

制品名称	Code No.	包装量
■ 探针法检测Real Time PCR相关		
<i>Premix Ex Taq</i> TM (Probe qPCR)	RR390Q	40 次
	RR390A	200 次
	RR390B (A×2)	400 次
<i>Premix Ex Taq</i> TM (Probe qPCR), Bulk	RR390L	200 次
	RR390W (L×5)	1,000 次
<i>Premix Ex Taq</i> TM (Probe qPCR), ROX plus	RR39LR	200 次
	RR39WR (LR×5)	1,000 次
One Step PrimeScript TM RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	RR064A	100 次
	RR064B (A×5)	500 次
Probe qPCR Mix	RR391S	40 次
	RR391A	200 次
	RR391B (A×2)	400 次

■ 直接对培养细胞RT-qPCR试剂		
CellAmp TM Direct TB Green TM RT-qPCR Kit	3735S	1 Kit
	3735A	1 Kit
CellAmp TM Direct Probe qRT-PCR Kit	3736S	1 Kit
	3736A	1 Kit

制品名称	Code No.	包装量
■ Cycling 探针法检测Real Time PCR相关		
CycleavePCR [®] Starter Kit	CY505S	80 次
CycleavePCR [®] Reaction Mix	CY505A	400 次
	CY505B (A×3)	1,200 次
CycleavePCR [®] Core Kit	CY501	50 次

■ MicroRNA 定量试剂		
Mir-X TM miRNA qRT-PCR TB Green Kit	638314	200 次
	638316	600 次
Mir-X TM miRNA First Strand Synthesis Kit	638313	20 次
	638315	60 次

■ Real Time PCR 仪		
Thermal Cycler Dice TM Real Time System III	TP950	一台
Thermal Cycler Dice TM Real Time System III with PC	TP970	一台
Thermal Cycler Dice TM Real Time System III with PC MRQ	TP980	一台
Thermal Cycler Dice TM Real Time System <i>Lite</i>	TP700	一台
Thermal Cycler Dice TM Real Time System <i>Lite</i> MRQ	TP760	一台
相对定量解析软件 [Multiplate RQ]	TP840	-

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可及注册商标信息请在网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品是2018年1月1日的信息，最新信息请参见公司官网。

关注Takara微信和微博，
好礼常常有！



Takara微信



Takara微博



Takara官网



Clontech Takara cellartis

销售商：

宝日医生物技术（北京）有限公司
Takara Biomedical Technology (Beijing) Co., Ltd.

地址：北京市昌平区科学园路22号（中关村生命科学园内）
电话：010-80720985, 80720986

制造商：

宝生物工程（大连）有限公司
Takara Biotechnology (Dalian) Co., Ltd.

地址：辽宁省大连市经济技术开发区东北二街19号
电话：0411-87621671

技术咨询热线：4006518761, 4006518769