



ELK Biotechnology
For research use only.

Human Telomere Length Quantification qPCR Assay Kit (Relative)

人端粒长度定量qPCR检测试剂盒（相对定量）

货号	规格	储藏/有效期
EQ022-01	100rxns	-20℃/一年
EQ022-02	500rxns	-20℃/一年

产品优势

- ◆ 快速获得结果，可节省多达 50%的时间
- ◆ 优化的即用型预混液用于快速 PCR 反应
- ◆ 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
- ◆ 平衡的 K^+ 和 NH_4^+ 离子配比，以及独立的 ROX Reference Dye 包装，适用所有 real-time PCR 仪器

产品描述

端粒 (Telomere) 是由多个重复核苷酸元件(TTAGGG)所串联组成的一段真核细胞染色体末端的DNA序列，除了提供非转录DNA的缓冲物外，还能保护染色体末端免于融合和退化，保护染色体结构稳定和遗传完整。端粒是一个人老化速度的最重要和准确的指标，它的初始长度由遗传和环境因素决定，并且会随着时间的推移而减少。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，对于研究人员来说，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。单拷贝基因引物(SCR)特异性识别并扩增人类11号染色体上78bp长的区域。

试剂盒中的引物组已通过检验，可确保：（1）高效可靠的定量；（2）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。



ELK Biotechnology
For research use only.

试剂组成

组分	EQ022-01	EQ022-02
2× Mix	1ml	1.25mL×4
Telomere Primer Mix (10uM)	50 μl	100 μl
Single Copy Reference Primer Mix (10uM)	50 μl	100 μl
50 x Rox	250 μl	1.25 ml
RNase-free ddH2O	1 ml	1.25mL×4
说明书	1 份	1 份

试剂盒原理

EnTurbo™ SYBR Green PCR SuperMix 可在大范围内进行特异性、灵敏的检测，适用于标准和快速 PCR 仪。预混液中的 SYBR Green I 染料可分析多个目标核酸，无需合成序列特异性探针。抗体法热启动Taq酶可以有效抑制引物非特异性退火导致的扩增，同时优化了PCR配方，适合低浓度模板的扩增，使定量PCR可以在宽广的定量区域内获得良好的标准曲线。

试剂盒应用

本产品旨在通过端粒基因 (Tel) 拷贝数及单拷贝基因 (SCR) 拷贝数的比值 (T/S) 来确认样品中染色体端粒的平均长度。仅供研究使用，未被批准用于临床或体外诊断。

注意事项

1. 模板

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

2. 运输及保存方式

- 1) 冰袋、干冰运输。
- 2) -20℃避光保存。本品含有荧光染料 SYBR Green I，保存或配制反应体系时需避免强光照射，使用前请务必颠倒混匀。
- 3) 为了您的安全及健康，实验操作时请穿实验服并佩戴一次性操作手套。



ELK Biotechnology
For research use only.

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 x Mix	10 μ L	1 x
Primer stock solution (Telomere or SCR)	0.4 μ L	0.2 μ M
Genomic DNA Template (0.5~5ng/ μ L)	1 μ L	
*50 x ROX Dye (可选)	0.4 μ L	1x
RNase-free ddH ₂ O	to 20 μ L	—

1. 推荐使用 20 μ L 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 μ L 反应体系）：

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



ELK Biotechnology

For research use only.

三步法扩增程序：

阶段	循环数	温度	时间
预变性	1x	95℃	3 min
变性	35-40x	95℃	5 sec
退火		58℃	30 sec
延伸		72℃	30 sec
熔解曲线 (Melt Curve)			

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58°C。

结果分析

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。



ELK Biotechnology

For research use only.

数据分析方法

根据说明书操作，荧光定量PCR检测之后得到基因组单拷贝基因（SCR）和用端粒重复序列（Tel）的Ct值，使用 ΔCt 法计算Tel与SCR的相对拷贝数T/S比率（T/S ration）：

$$T/S \text{ ration} = [2^{Ct(Tel)/2Ct(SCR)}] - 1 = 2^{-\Delta Ct}$$

由于T/S比率同端粒长度成正比关系，因此可以通过T/S比率来反应端粒的相对长度。

以一个样本三个重复为例：

① 荧光定量PCR检测获得重复样本Ct值

Target	Ct值 1	Ct值 2	Ct值 3
Tel	30.40	30.55	30.41
SCR	23.63	23.40	23.52

② 计算样本两种基因的Ct平均值

Target	Ct平均值
Tel	30.45
SCR	23.51

③ 计算样本两种基因的 ΔCt 值

$$\Delta Ct = 30.45 - 23.51 = 6.94$$

④ 计算相对拷贝数

$$T/S \text{ ration} = 2^{-\Delta Ct} = 2^{-6.94} = 0.008144264$$