

TaKaRa Code: DRR091A

SYBR[®] Premix DimerEraser[™]
(Perfect Real Time)
(200 次量)

说明书

TaKaRa

宝生物工程(大连)有限公司

目 录

内 容	页 码
●制品说明	1
●制品内容	1
●适用的 Real Time PCR 扩增仪	1
●保 存	1
●试剂盒原理	1
●试剂盒特长	2
●操作注意	2
●操作方法	2
◆应用 Thermal Cyclor Dice Real Time System 扩增仪的操作方法	2
◆应用 ABI PRISM 7000/7700/7900 HT, 7300/7500/7500 Fast Real - Time PCR 扩增仪的操作方法	4
◆应用 LightCycler Real Time PCR 扩增仪的操作方法	5
◆应用 Smart Cyclor II System Real Time PCR 扩增仪的操作方法	6
●实验条件的选择	7
●进行 RT-PCR 反应时的实验方法	8
●引物设计说明	10
●引物设计服务	10

◆特别提示:

本制品请于 4℃避光保存，避免-20℃冻结制品！

●制品说明

本制品是采用SYBR® Green I嵌合荧光法进行Real Time PCR的专用试剂。制品中含有Real Time PCR反应的最适浓度SYBR® Green I, 是一种 2×浓度的Premix Type试剂, 进行实验时, PCR反应液的配制十分方便简单。

本制品通过添加辅助蛋白和对Buffer组份的改良, 使反应特异性比SYBR® Premix Ex Taq™ II (Perfect Real Time) (TaKaRa Code: DRR081) 更高。特别对影响SYBR® Green分析方法的主要因素引物二聚体的产生有明显抑制作用。本制品建议使用 3 Step PCR作为标准流程, 3 Step PCR反应时间稍长, 但能有效抑制非特异性的PCR扩增。

本制品对微量模板浓度也有很高的灵敏度, 可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线, 对靶基因进行准确定量检测, 重复性好, 可信度高。

●制品内容 (50 µl 反应×200 次)

SYBR® Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time) (2×conc.) *1	1.0 ml×5 支
ROX Reference Dye (50×Conc.) *2	200 µl×1 支
ROX Reference Dye II (50×Conc.) *2	200 µl×1 支

*1 内含 TaKaRa Ex Taq HS, dNTP Mixture, Mg²⁺, SYBR® Green I等。

*2 只使用在ABI、Stratagene等公司的Real Time PCR扩增仪上, 用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差。使用ABI PRISM 7000/7700/7900HT和 7300 Real-Time PCR System使用ROX Reference Dye, 7500 Real-Time PCR System、7500 Fast Real-Time PCR System和Stratagene公司的Mx3000P使用ROX Reference Dye II。Thermal Cycler Dice Real Time System、Smart Cycler® System/Smart Cycler® II System、LightCycler等Real Time PCR扩增仪时不必使用。

●适用的 Real Time PCR 扩增仪

Thermal Cycler Dice® Real Time System (TaKaRa Code: TP800)

ABI PRISM® 7000/7700/7900HT, 7300/7500 Real-Time PCR System, 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

LightCycler® (Roche Diagnostics)

Smart Cycler® System (Cepheid)

其他各种 Real Time PCR 扩增仪

●保 存

4℃避光保存, 避免-20℃冻结制品。 -20℃反复冻融制品性能可能下降。

●试剂盒原理

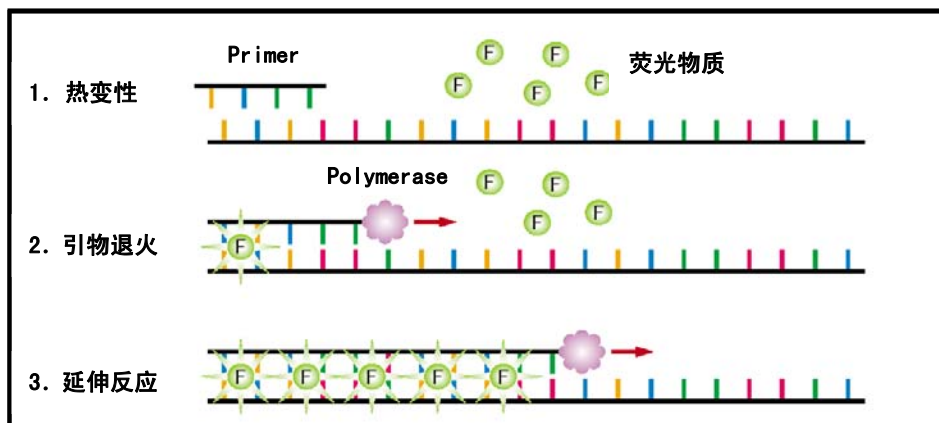
本制品使用了改良后的 TaKaRa Ex Taq HS 进行PCR扩增, 通过检测反应液中SYBR Green I的荧光强度, 达到监控PCR产物扩增量的目的。

1. PCR法是以极微量的DNA为模板, 对目的基因进行特异性扩增的技术。由模板热变性、引物退火、DNA聚合酶延伸反应构成一个循环, 重复这个循环, 可以在几个小时内把目的DNA扩增100万倍以上。本制品中的DNA聚合酶采用了比Taq酶扩增效率更高的TaKaRa Ex Taq HS, 可以在更短时间内进行高灵敏度的检出, 并能有效防止在热循环前由引物错配或引物二聚体产生的非特异性扩增。

2. 嵌合荧光检测法。

SYBR® Green I与双链DNA结合后发出荧光，所以可以通过检测反应体系中的SYBR® Green I荧光强度，达到检测PCR产物扩增量的目的。

具体原理见下图。通过PCR反应生成双链DNA，SYBR® Green I与双链DNA结合发出荧光，通过检测PCR反应液中的荧光信号强度，可以对目的基因进行准确定量，同时还可以测定扩增的目的DNA片段的融解温度。



●试剂盒特长

1. 适用于 Real Time PCR 反应，可以快速、准确地对目的基因进行检测、定量。
2. 在 2× 浓度的 Premix 中，预先混有 SYBR® Green I，PCR 反应液配制时，只需加入模板、引物、灭菌蒸馏水便可进行 Real Time PCR 反应，操作简单方便。
3. DNA 聚合酶使用了改良后的 *TaKaRa Ex Taq* HS，可以进行 Hot Start 法 PCR 反应，有效防止热循环反应前由引物非特异性退火引起的非特异性扩增。同时制品中还添加了辅助蛋白，可以进一步抑制 PCR 反应中由于引物的非特异性退火或引物二聚体等引起的非特异性扩增。

●操作注意

以下为使用本试剂盒时的注意事项，使用前请一定认真阅读。

1. 使用时请上下颠倒轻轻均匀混合，避免起泡，并经轻微离心后使用。如果试剂没有混匀，其反应性能会有所下降。但请不要使用振荡器混匀。
2. 请于冰上配制反应试剂。
3. 本制品中含有荧光染料 SYBR® Green I，保存制品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。
4. 反应液的配制、分装请一定使用新的（无污染的）枪头、Microtube 等，尽量避免污染。

●操作方法

SYBR® Premix DimerEraser™ (Perfect Real Time) 的标准流程是 3 Step PCR 法。

◆应用 Thermal Cycler Dice® Real Time System 扩增仪的操作方法

请按照 Thermal Cycler Dice® Real Time System (TaKaRa Code: TP800) 的使用说明书要求进行实验操作。

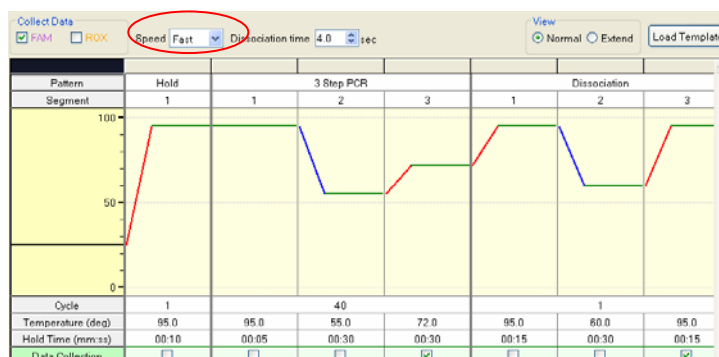
① 按下列组份配制 PCR 反应液（反应液配制请在冰上进行）。

试剂	使用量	终浓度
SYBR® Premix DimerEraser™ (2×)	12.5 µl	1 ×
PCR Forward Primer (10 µM)	0.75 µl	0.3 µM * 1
PCR Reverse Primer (10 µM)	0.75 µl	0.3 µM * 1
Template (<100 ng)	2 µl	* 2
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	9 µl	
Total	25 µl	* 3

- *1 通常引物终浓度为 0.3 µM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可以在 0.2~1.0 µM 范围内调整引物浓度。
- *2 DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的 DNA 模板添加量。如果欲使用本制品进行 2 Step RT-PCR 反应的第二步 PCR 扩增反应，第一步的 RT 反应液作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。
- *3 建议反应液体积为 25 µl。

② 进行 Real Time PCR 反应。

建议采用下列图表显示的 3 Step PCR 法反应程序。必须以 Fast Mode default 原始设定的形式进行。反应性能有问题时，请参照「实验条件的选择」进行反应条件摸索。



Speed: Fast

Hold (初期变性)

Cycle: 1

95°C 30 秒

3 Step PCR

Cycle: 40

95°C 5 秒

55°C 30 秒

72°C 30 秒

Dissociation

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq* HS 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶，与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比，不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长，会使酶的活性下降，其 PCR 的扩增效率、定量精度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性，通常设定为 95°C、30 秒。

③ 实验结果分析。

反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线，进行 PCR 定量时制作标准曲线等。

◆ 应用ABI PRISM® 7000/7700/7900HT, 7300/7500/7500 Fast Real-Time PCR System扩增仪的操作方法

请按照 Applied Biosystems 公司的仪器使用说明书要求进行实验操作。

① 按下列组份配制 PCR 反应液（反应液配制请在冰上进行）。

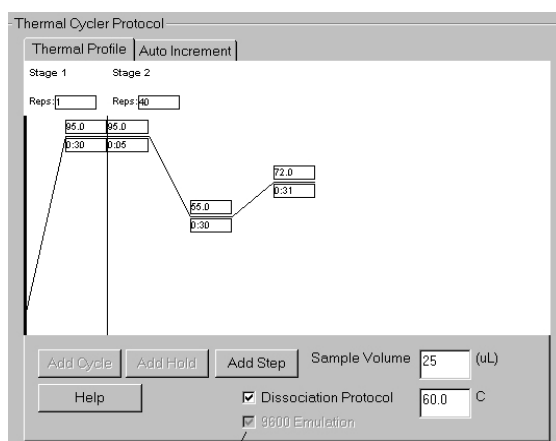
试剂	使用量	使用量	终浓度
SYBR® Premix DimerEraser™ (2×)	10 µl	25 µl	1×
PCR Forward Primer (10 µM)	0.6 µl	1.5 µl	0.3 µM*1
PCR Reverse Primer (10 µM)	0.6 µl	1.5 µl	0.3 µM*1
ROX Reference Dye (50×) or ROX Reference Dye Dye II (50×) *3	0.4 µl	1 µl	1×
Template (<100 ng)	2 µl	4 µl	*2
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	6.4 µl	17 µl	
Total	20 µl *4	50 µl *4	

- *1 通常引物终浓度为 0.3 µM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可以在 0.2~1.0 µM 范围内调整引物浓度。
- *2 20 µl 反应体系 DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的 DNA 模板添加量。
如果欲使用本制品进行 2 Step RT-PCR 反应的第二步 PCR 扩增反应，第一步的 RT 反应液作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。
- *3 ROX Reference Dye II (50×) 比 ROX Reference Dye (50×) 浓度低，使用 7500 Real-Time PCR System 和 7500 Fast Real-Time PCR System 时，请使用 ROX Reference Dye II (50×)；使用 ABI PRISM® 7000 进行分析时，请使用 ROX Reference Dye (50×)。
- *4 96 孔板、Single-Tube、8 联 Tube 采用 50 µl 反应体系，384 孔板及 Fast System 用的 96 孔板、8 联 Tube (0.1 ml) 的反应体系为 20 µl。

② 进行 Real Time PCR 反应。

建议采用下列图表显示的 3 Step PCR 反应程序，如果该程序得不到良好的实验结果时，请参照「实验条件的选择」进行反应条件摸索。

<ABI PRISM® 7000、7500 Real-Time PCR System>



3 Step PCR标准流程:

Stage 1: 预变性

Reps: 1
95°C 30 秒

Stage 2: PCR 反应

Reps: 40
95°C 5 秒
55°C 30 秒*
72°C 31 秒~34 秒*

Melt Curve Stage

* 7000 设定 31 秒、7500 设定 34 秒。

<7500 Fast Real-Time PCR System>

3 Step PCR标准流程:

Holding Stage
95℃ 30 秒

Cycling Stage
Number of Cycles: 40
95℃ 3 秒
55℃ 30 秒
72℃ 30 秒

Melt Curve Stage

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq HS* 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶, 与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比, 不需要 PCR 反应前的 95℃、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长, 会使酶的活性下降, 其 PCR 的扩增效率、定量精度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性, 通常设定为 95℃、30 秒。

③ 实验结果分析。

反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线等。

◆应用 LightCycler Real Time PCR 扩增仪的操作方法

请按照LightCycler® (Roche Diagnostics公司) 的使用说明书要求进行实验操作。

① 按下列组份配制 PCR 反应液 (反应液配制请在冰上进行)。

试剂	使用量	终浓度
SYBR® Premix DimerEraser™ (2×)	10 µl	1×
PCR Forward Primer (10 µM)	0.6 µl	0.3 µM * 1
PCR Reverse Primer (10 µM)	0.6 µl	0.3 µM * 1
Template (<100 ng)	2 µl	* 2
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	6.8 µl	
Total	20 µl	

*1 通常引物终浓度为 0.3 µM 可以得到较好结果。反应性能较差时, 可以在 0.2~1.0 µM 范围内调整引物浓度。

*2 DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同, 必要时可进行梯度稀释, 确定最佳的 DNA 模板添加量。

如果欲使用本制品进行 2 Step RT-PCR 反应的第二步 PCR 扩增反应, 第一步的 RT 反应液作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

② 进行 Real Time PCR 反应。

PCR反应用的毛细管请用离心机轻微离心后放入LightCycler中进行Real Time PCR反应。建议采用下列图表显示的3 Step PCR反应程序, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 请参照「实验条件的选择」进行反应条件摸索。

Cycle Program Data Analysis Mode: None

Cycles: 40 Quantification Melting Curves

Temperature Targets

Target Temperature (°C) Incubation Time (hrs:min:sec) Temperature Transition Rate (°C/s) Secondary Target Temperature (°C) Step Size (°C) Step Delay (cycles) Acquisition Mode

Ins	95	5	20.00	0	0.0	0	NONE	Del
Ins	55	30	20.00	0	0.0	0	NONE	Del
Ins	72	30	20.00	0	0.0	0	SINGLE	Del
Ins								

3 Step PCR标准流程:

Stage 1: 预变性

95°C 30 秒 20°C/秒

1 Cycle

Stage 2: PCR 反应

95°C 5 秒 20°C/秒

55°C 30 秒 20°C/秒

72°C 30 秒 20°C/秒

40 Cycles

Stage 3: 扩增曲线分析

95°C 0 秒 20°C/秒

65°C 15 秒 20°C/秒

95°C 0 秒 0.1°C/秒

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq HS* 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶, 与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比, 不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长, 会使酶的活性下降, 其 PCR 的扩增效率、定量精度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性, 通常设定为 95°C、30 秒。

③ 实验结果分析。

反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线等。

◆应用 Smart Cyclyer II System Real Time PCR 扩增仪的操作方法

请按照 Smart Cyclyer® (Cepheid公司) 的使用说明书要求进行实验操作。

① 按下列组份配制 PCR 反应液 (反应液配制请在冰上进行)。

试剂	使用量	终浓度
SYBR® Premix DimerEraser™ (2×)	12.5 µl	1 ×
PCR Forward Primer (10 µM)	0.75 µl	0.3 µM * 1
PCR Reverse Primer (10 µM)	0.75 µl	0.3 µM * 1
Template (<100 ng)	2 µl	* 2
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	9 µl	
Total	25 µl	

*1 通常引物终浓度为 0.3 µM 可以得到较好结果。反应性能较差时, 可以在 0.2~1.0 µM 范围内调整引物浓度。

*2 DNA 模板的添加量通常在 100 ng 以下。因不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同, 必要时可进行梯度稀释, 确定最佳的 DNA 模板添加量。

如果欲使用本制品进行 2 Step RT-PCR 反应的第二步 PCR 扩增反应, 第一步的 RT 反应液作为模板时的添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 10%。

② 进行 Real Time PCR 反应。

PCR反应管用离心机轻轻离心后放入 Smart Cyclyer II System 中进行 Real Time PCR 反应。建议采用下列图表显示的 3 Step PCR 反应程序, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 请参照「实验条件的选择」进行反应条件摸索。

3 Step PCR标准流程:

Stage 1			Stage 2			Stage 3				
Hold			Repeat 40 times.			Melt Curve				
Temp	Secs	Optics	3. Temperature Cycle			Start	End	Optics	Deg/Sec	
95.0	30	Off	Deg/Sec	Temp	Secs	Optics	60.0	95.0	Ch1	0.2
			NA	95.0	5	Off				
			NA	55.0	30	Off				
			NA	72.0	30	On				
			☐ Advance to Next Stage							

Stage 1: 预变性

Hold

95°C 30 秒

Stage 2: PCR 反应

Repeat: 40 times

95°C 5 秒

55°C 30 秒

72°C 30 秒

Stage 3: Melt Curve

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq HS* 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶, 与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比, 不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长, 会使酶的活性下降, 其 PCR 的扩增效率、定量精度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性, 通常设定为 95°C、30 秒。

③ 实验结果分析。

反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线等

●实验条件的选择

如果按照推荐的两步法条件进行反应, 反应性能不好时, 请按照下面的方法进行引物和PCR反应条件的研讨。实验条件选择时, 请从反应特异性与扩增效率两方面进行综合考虑。要求能同时满足这两个条件的反应体系, 并可以在较大浓度范围内进行很好的定量。

○反应特异性高的实验体系应具备以下条件:

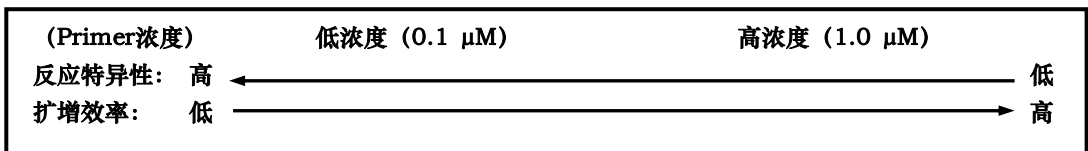
- No Template Control 时不产生引物二聚体等非特异性扩增。
- 不产生目的片段以外的扩增。

○扩增效率高的实验体系应具备以下条件:

- 扩增产物起峰更早 (Ct值小)。
- PCR扩增效率高 (接近理论值100%)。

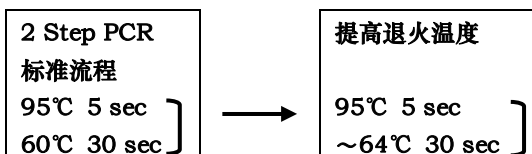
1. Primer浓度与反应性能间的关系如下:

降低Primer浓度有助于提高特异性; 提高Primer浓度有助于提高扩增效率。图示如下:

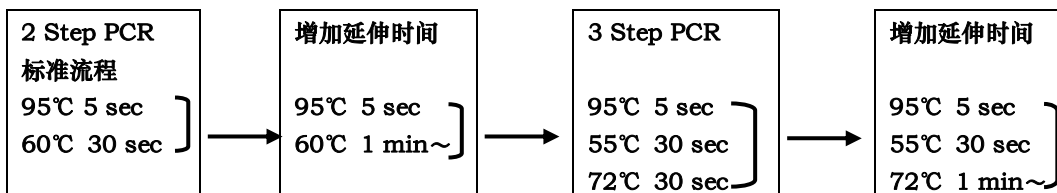


2. PCR 条件与反应性能间的关系如下:

① 要提高反应特异性, 可以提高退火温度或变为2 Step PCR反应。



② 要提高扩增效率，可以增加延伸时间或变为 3 Step PCR 反应。



③ 预变性。

预变性条件通常设定为 95°C 30 sec，使用此条件对于难变性的环状质粒 DNA 和基因组 DNA 模板也能够很好的变性。如果想改变变性条件，可以延长至 1~2 分钟。但是时间过长酶容易失活，不推荐使用 2 分钟以上的变性条件。

3. 各种试剂与反应性能间的关系如下：

TaKaRa 公司有三种 SYBR Green Assay 用的 Real Time PCR 试剂，这些试剂的反应特异性以及扩增效率间有以下关系。SYBR® *Premix Ex Taq*™ II (TaKaRa Code: DRR081) 是扩增效率与反应特异性综合性较好的试剂，但是，如果想提高反应特异性，使用 SYBR® *Premix DimerEraser*™ (TaKaRa Code: DRR091) 则更有效。另外，对于难以扩增的序列，使用 SYBR® *Premix Ex Taq*™ (TaKaRa Code: DRR041) 有时可以提高扩增效率。

SYBR® <i>Premix Ex Taq</i> ™	SYBR® <i>Premix Ex Taq</i> ™ II	SYBR® <i>Premix DimerEraser</i> ™
反应特异性： 稍低		高
扩增效率： 高		稍低

● 进行 RT-PCR 反应时的实验方法

反转录反应使用 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa Code: DRR037A)，与本制品组合使用，能得到良好的实验结果。Real Time PCR 扩增仪使用了 Thermal Cycler Dice® Real Time System (TaKaRa Code: TP800)。

1. 按下列组份配制 RT 反应液（反应液请在冰上配制）。

使用 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa Code: DRR037A) 试剂。

试 剂	使 用 量	终浓度
5×PrimeScript Buffer (for Real Time)	2 µl	1×
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 µl	
Oligo dT Primer (50 µM) *1	0.5 µl	25 pmol
Random 6 mers (100 µM) *1	0.5 µl	50 pmol
Total RNA		
RNase Free dH2O		
Total	10 µl*2	

*1 Random 6 mers 和 Oligo dT Primer 同时使用，可有效地将全长 mRNA 反转录成 cDNA。

使用单引物进行反转录时，使用量分别如下：

Random 6 mers (100 µM) 0.5 µl (50 pmol)

Oligo dT Primer (50 µM) 0.5 µl (25 pmol)

Specific Primer (2 µM) 0.5 µl (1 pmol)

*2 反应体积可按需求相应放大，10 µl 的反应体系可最大使用 500 ng 的 Total RNA。

2. 反转录反应条件如下：

37℃ 15 min (反转录反应) *3
85℃ 5 sec (反转录酶的失活反应)
4℃

*3: 使用 Gene Specific Primer 时, 反转录反应条件请使用 42℃ 15 min。如果 Real Time PCR 反应有非特异性产物生成时, 反转录温度提高至 50℃ 对提高 PCR 反应特异性会有所改善。

3. 按下列组份配制 Real Time PCR 反应液 (反应液请在冰上配制)。

试 剂	使 用 量	终浓度
SYBR® Premix DimerEraser™ (2×)	12.5 μl	1×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.75 μl	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.75 μl	0.3 μM
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	x μl	
Total	22.5~24 μl	

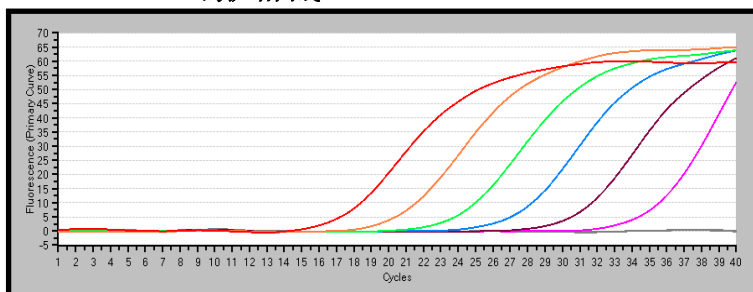
4. 将上述 PCR 反应液加入 Real Time PCR 用反应管中, 然后再加入 2.5~1 μl* 的 RT 反应液 (或 RT 反应的稀释液), 保证最终反应体积为 25 μl。

* RT 反应液的加入量不要超过 Real Time PCR 反应体积的 1/10 (V/V) 量。

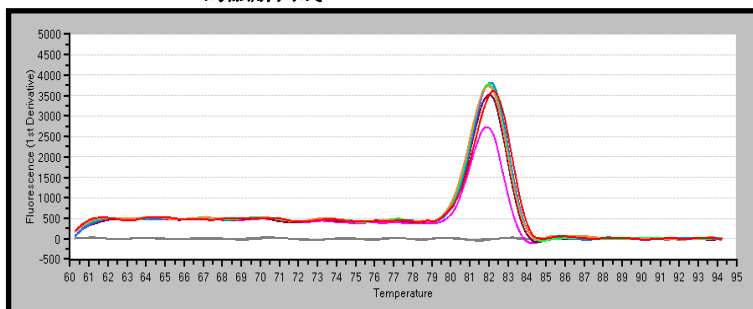
5. 实验结果例。

通过 RT-PCR 对 Human RPLP 2 mRNA 进行检出, cDNA 量相当于 Total RNA 1 pg~100 ng。使用 dH₂O 做为 Negative Control 用模板。Real Time PCR 的扩增曲线、融解曲线、标准曲线如下图。

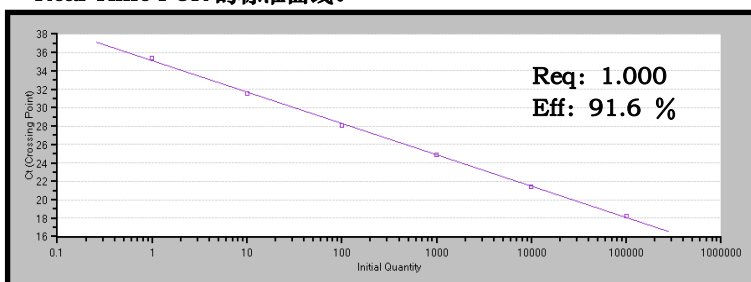
Real Time PCR 的扩增曲线。



Real Time PCR 的融解曲线。



Real Time PCR 的标准曲线。



●引物设计说明

进行 Real Time PCR 反应时，设计反应性能良好的 PCR 引物非常重要。根据以下原则，可以设计 PCR 扩增效率高，反应特异性强的良好引物。

◆ PCR 扩增产物长度：80~150 bp 最为合适（可以延长至 300 bp）。

◆ 设计引物要求如下：

引物长度	17 ~ 25 mers
GC 含量	40 ~ 60% (45 ~ 55% 最佳)
Tm 值	Forward Primer 和 Reverse Primer 的 Tm 值 不能相差太大。 Tm 值的计算使用专用软件。 OLIGO *1: 63 ~ 68℃ Primer3 *2: 60 ~ 65℃
引物序列	A、G、C、T 整体分布尽量均匀。 不要有部分的 GC rich 或 AT rich (特别是 3' 端)。 避开 T/C (Polypyrimidine) 或 A/G (Polypurine) 的连续结构。
3' 末端序列	避免 GC rich 或 AT rich。 3' 端碱基最好为 G 或 C。 尽量避免 3' 末端碱基为 T。
互补序列	避开引物内部或两条引物之间有 3 个碱基以上的互补序列。二条引物间的 3' 末端避开有 2 个碱基以上的互补序列。
特异性	使用 BLAST *3 检索确认引物的特异性。

*1 OLIGO: Primer Analysis Software。

*2 Primer3: (<http://www-genome.wi.mit.edu/ftp/distribution/software/>)

*3 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>

●引物设计服务：本公司提供用于基因表达定量分析的引物设计及合成服务

本公司以美国 NCBI Data Base 上登录的 Human、Mouse、Rat、Cow、Dog、Chicken 的 RefSeq 为对象，已经设计完成了各基因用于定量表达分析的 Real Time RT-PCR 用高特异性 Primer Set，此 Primer Set 最适于本制品使用，可省略 PCR 反应条件优化实验。具体情况如下：

可提供 1~3 对合适的引物，由客户自己选择。

1. 从 3' 端开始的 1,500 Base 内的引物候补序列。
2. 从 5' 端开始的 1,500 Base 内的引物候补序列。
3. 针对 Target 基因全长的引物候补序列。

注) 本公司只对在本公司合成的引物/探针提供免费设计服务，恕不受理不在本公司合成的引物/探针的设计委托！

MEMO

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

8008909508, 4006518769

宝生物工程（大连）有限公司

TaKaRa Biotechnology (Dalian) Co., Ltd.

辽宁省大连经济技术开发区东北二街 19 号 (116600)

No.19 Dongbei 2nd Street, Development Zone, Dalian, China

电 话： 0411-87641681 87641683

传 真： 0411-87619946 87621675

E.mail: service@takara.com.cn

网 址: <http://www.takara.com.cn>

V2010. 04

本制品仅供研究用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂