

# qPCR检测应用 贴士大放送

发文利器,MIQE合规的 罗氏qPCR检测试剂 **低至6折** 



# MIQE指南——整合了qPCR研究中审稿人关注的重点要素

为了获得您自身及审稿人认可的RT-qPCR实验结果,您需要关注以下3步:

qPCR基因表达检测实验流程	罗氏试剂盒提示您需注重的合规性
Step1: 样品采集和RNA制备 合理的样品采集和RNA制备过程,是获得精确实验结果的首要前提。您需要 注意和记录样品的采集过程,保存温度和时间,RNA抽提方法,获得的RNA 完整性和纯度,及便于RNA保存的浓度、缓冲液和温度条件。	Roche High Pure RNA Isolation Kit  45min可平行处理多个样品,保证RNA抽提过程的一致性 方便的柱抽法,减少抽提过程的错误几率  无需有机溶剂抽提和乙醇沉淀处理,防止RNA得率损失  抽提过程中整合DNase处理,获得高纯度RNA,并保证DNase的去除
Step2: 反转录过程 反转录的时候,您就需要对您待测的基因进行了解了,其丰度如何,是否有二级结构的存在。反转录过程不仅需考虑反转效率(获得cDNA的量),还需考虑模板量,反转录温度和反应时间,RNA二级结构的克服策略,应用的反转录引物和浓度。	Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit  为qPCR反应优化的反转录试剂,同效反转高低丰度的模板  宽泛的反应温度,可针对高GC—和二级结构严重的RNA模板提高 至60°C 反应  一个试剂盒内包含了不同的引物组分,针对4种引物策略提供了经过优化 的实验步骤
Step3: qPCR扩增和分析 qPCR精确结果的获得是终极目的。合适的引物探针设计,qPCR试剂的应用, 扩增效率和灵敏度的验证,参比基因的选择,热循环参数的设置,qPCR系统性能,平行样品和对照样品的设计,以及软件对实验结果的分析 反应的重复性如何?前两步的准备过程是否严谨,对step3有非常重大的影响!	LightCycler* 480 Master/FastStart Essential DNA Master/FastStart Universal Master (Rox)

<sup>\*</sup>了解MIQE合规的qPCR仪器和软件: www.lightcycler.com

### 研究者创建的qPCR研究流程指南: My MIQE Guide

由于学术界缺乏进行qPCR实验的统一标准,长期以来对实验结果的准确性判断和文献的可参考性产生了不利影响。在此基础上,qPCR学术大V们建议并制定了qPCR最新国际标准——MIQE指南(Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments\*),以规范qPCR实验操作和文献写作,保证实验结果的准确性和可信度。

您的qPCR实验是否合规呢,为了避免稿件被评审的质疑,避免实验返工带来的无助,您可以应用罗氏为您准备的MIQE Tool,通过简单的问卷填写,检验您的MIQE合规性,简化并精确您的qPCR研究!

应用www.roche-applied-science.com/miqetools, 您可在线填写并下载自己的MIQE checklist。



\* Bustin, S.A., et al. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. Clinical Chemistry 55(4), 611–622.

Bustin, S.A., et al. (2010). MIQE precis: Practical implementation of minimum standard guidelines for fluorescence-based quantitative real-time PCR experiments. BMC Molecular Biology 11, 74.

### 核酸模板制备和反转录

### 赢在模板质量——使用High Pure柱抽试剂盒获得高质量模板

高质量的RNA模板不仅是指高核酸得率和不含qPCR反应的抑制物,DNA基因组的完全去除也是保证qPCR准确定量结果的王道。 罗氏High Pure系列RNA抽提试剂盒中通过**柱上DNA酶处理**,简单有效地去除模板中DNA基因组污染,获得真正的高纯模板。

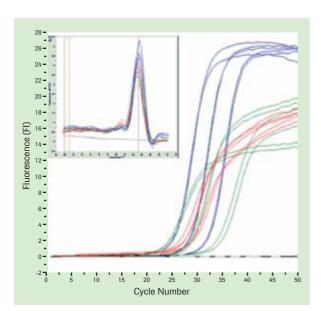
### 10°线性范围的反转录——Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit

反转录反应也有线性范围?能将极低浓度RNA和极高浓度RNA进行等效反转录,得到的cDNA才不会使qPCR的检测结果偏倚。

- 为qPCR优化的RT 该试剂盒为 LightCycler®系统及其他实时定量 PCR系统的qPCR检测进行了优化。
- 高温反转录 反应温度可高达55-65°C,克服RNA二级结构,获得14kb的全长cDNA。
- 根据模板特性选择引物 试剂盒中提供了随机六聚引物和锚定的oligo(dT),

产品名称	产品货号	包装规格	建议折扣	建议目录价 (RMB)	建议特惠价 (RMB)
High Pure PCR Template Preparation Kit	11 796 828 001	1 kit (up to 100 isolations)	6折	1,812	1,087
High Pure FFPET DNA Isolation Kit	06 650 767 001	1 kit (50 isolations)	6折	2,154	1,292
DNA Isolation for Mammalian Blood	11 667 327 001	1 kit (25 isolations of 10 ml samples)	6折	2,191	1,315
TriPure Isolation Reagent	11 667 165 001	200 ml	6折	2,997	1,798
High Pure RNA Isolation Kit	11 828 665 001	1 kit (50 isolations)	6折	2,412	1,447
High Pure RNA Tissue Kit	12 033 674 001	1 kit (50 isolations)	6折	2,412	1,447
High Pure FFPET RNA Isolation Kit	06 650 775 001	1 kit (50 isolations)	6折	3,300	1,980
	04 379 012 001	1 kit (20 µl final volume, 50 reactions) 提供10次对照反应	7折	1,200	840
Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit	04 896 866 001	1 kit (20 µl final volume, 100 reactions)	7折	1,800	1,260
	04 897 030 001	1 kit (20 µl final volume, 200 reactions)	7折	3,200	2,240
Transcriptor Reverse Transcriptase	03 531 287 001	2,000 U (20 µl final volume, 500 reactions)	7折	1,600	1,120
Protector RNase Inhibitor	03 335 399 001	2,000 U	6折	1,088	653
FIOLECTOL LINASE HIHIDITOL	03 335 402 001	10,000 U (5 x 2,000 U)	6折	4,425	2,655

更多相关信息,请访问www.roche-applied-science.com/mnap | www.roche-applied-science.com/sis/transcriptor



0.005 -Cycle Number 图2: 跨度为10°浓度范围的RNA作为模板进行反转录,Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit反转后进行qPCR检测。RNA浓度为5-5 x 10<sup>9</sup> 拷贝,体外反转后检测PBGD 基因。Transcriptor 第一链合成试剂盒体现了10°线性反转范围。

0.065 -

0.6

0.055 -

0.05 -

0.045 -

0.04 -

0.035 -0.03 -

0.025 -0.02 -0.015 -0.01 -

Fluorescence (F2/F1)

图1: Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit对人骨骼肌组织中提取的10ng-1µg范围的 总RNA进行反转录后扩增。蓝色曲线为Transcriptor cDNA合成产物的扩增曲线,其基因表 达检测的灵敏度和线性明显优于使用普通反转录酶进行cDNA合成的检测效果(红色曲线 和绿色曲线)。

数据来源: Roche R&D

# Real-Time PCR

### 为不同仪器平台优化的高性能qPCR检测试剂

LightCycler®和FastStart系列qPCR反应预混液

- **高灵敏度和特异性** 罗氏改良的热启动PCR酶,激活后持续地运行高效qPCR反应。
- **酶活强健、稳定** 室温制备反应体系,自动化移液系统适用。
- 防交叉污染功能 qPCR反应前应用 Uracil-DNA Glycosylase去除PCR产物的交叉污染,防止假阳性检测。





产品名称	产品货号	包装规格	反应次数	建议目录价 (RMB)	建议特惠价 (RMB)
为LightCycler*480平台优化					
LightCycler® 480 Probes Master	04 707 494 001	5 x 1 ml	500 reactions	1,800	1,260
Light Cycles 400 Flobes Waster	04 887 301 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	14,400	10,080
LinksOcales® (OO OVPD Ocean LManton	04 707 516 001	5 x 1 ml	500 reactions	1,700	1,190
LightCycler® 480 SYBR Green I Master	04 887 352 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	14,400	10,080
LightCycler® 480 High Resolution Melting Master	04 909 631 001	5 x 1 ml	500 reactions	2,100	1,470
为不需要ROX染料应用的平台优化					
FastStart Essential DNA Green Master	06 402 712 001	5 x 1 ml	500 reactions	1,385	970
	06 924 204 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	13,800	9,660
FastStart Essential DNA Probes Master	06 402 682 001	5 x 1 ml	500 reactions	1,538	1,077
FastStart Essential DIVA Probes Master	06 924 492 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	13,800	9,660
需要ROX染料应用的所有平台通用					
FastStart Universal Probe Master (Rox)	04 913 949 001	2 x 1.25 ml	250 reactions	905	634
	04 913 957 001	10 x 1.25 ml	1,250 reactions	3,700	2,590
	04 914 058 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	13,200	9,240
FootOtant Hairman I OVDD One on Markey (Day)	04 913 850 001	4 x 1.25 ml	500 reactions	1,650	1,155
FastStart Universal SYBR Green Master (Rox)	04 913 914 001	10 x 5 ml	5,000 reactions	13,200	9,240

更多相关信息,请访问www.roche-applied-science.com/qpcr

### 蛋白纯化

### 真正兼容EDTA和DTT的IMAC纯化

您在选择缓冲液条件时还在考虑与IMAC介质的兼容性吗?

给您的蛋白更舒适的纯化环境吧,根据您的蛋白特性在缓冲液条件中使用DTT, EDTA或其他需要的组分。得益于罗氏特殊的镍螯合化学技术。该纯化树脂与常用的还原剂真正兼容, 无需担心纯化过程中Ni脱落问题。.

- 纯化过程中使用蛋白最适缓冲条件、保证蛋白功能
- 无需进行镍离子的更新螯合,连续重复使用,始终获得高纯度蛋白
- 无Ni脱落——Ni的脱落将导致蛋白的氧化和聚合,破坏目标蛋白的正常结构和功能:
- 无重金属处理过程,安全无毒的实验环境

6 扩起

促销活动编号PROMO-AJ14 | 免费订货热线: 800-820-3361 400-820-3361 | 技术咨询热线: 800-820-0577

产品名称	产品货号	包装规格	建议折扣	建议目录价 (RMB)	建议特惠价 (RMB)
cOmplete His-Tag Purification Column	06 781 535 001	5 mL Column	7.5折	1,169	877
complete riis-rag i uriiication column	06 781 543 001	5 x 1 mL Column	7.5折	2,000	1,500
cOmplete His-Tag Purification Resin	05 893 682 001	25 mL settled resin volume	7.5折	3,385	2,539
Complete riis-ray Furnication Nesin	05 893 801 001	200 mL settled resin volume	7.5折	18,462	13,847
Protein A Agarose	11 719 408 001	2 mL settled resin volume	6折	2,797	1,678
	11 134 515 001	5 mL settled resin volume	6折	5,868	3,521
	05 015 979 001	15 mL settled resin volume	6折	14,571	8,743
	11 719 416 001	2 mL settled resin volume	6折	3,945	2,367
Protein G Agarose	11 243 233 001	5 mL settled resin volume	6折	5,751	3,451
	05 015 952 001	15 mL settled resin volume	6折	16,280	9,768
Anti-HA Affinity Matrix	11 815 016 001	1 mL settled resin volume	6折	8,311	4,987
Anti-Protein C Affinity Matrix	11 815 024 001	1 mL settled resin volume	6折	14,511	8,707
Streptavidin Mutein Matrix	03 708 152 001	5 mL settled resin volume	6折	5,032	3,019

更多相关信息,请访问www.complete.roche.com

### 蛋白检测

Lumi-Light<sup>PLUS</sup> Western Blotting Kit专为方便及高灵敏的WB检测设计。试剂盒包含了western blotting需要的所有检测试剂,含抗兔及抗小鼠IgG 抗体。

- 检测灵敏度: 1-5 pg
- 可多次曝光检测 信号稳定时间长达9 h
- 节省宝贵的一抗 超强信号检测,与化学显色法相比,可将一抗进行 10-100倍稀释

6 扩起

促销活动编号PROMO-AJ14 | 免费订货热线: 800-820-3361 400-820-3361 | 技术咨询热线: 800-820-0577

15050055000					
产品名称	产品货号	包装规格	建议折扣	建议目录价 (RMB)	建议特惠价 (RMB)
Lumi-Light <sup>PLUS</sup> Western Blotting Kit (Mouse/Rabbit)	12 015 218 001	1 kit 1,000 cm² membrane	7折	8,615	6,031
Lumi-Light <sup>PLUS</sup> Western Blotting Substrate	12 015 196 001	100 mL 1,000 cm <sup>2</sup> membrane	7折	4,462	3,123
Lumi-Light Western Blotting Substrate	12 015 200 001	400 mL 4,000 cm <sup>2</sup> membrane	7折	2,462	1,723
Western Blocking Reagent	11 921 673 001	100 mL 10 blots 100 cm <sup>2</sup> membrane	6折	940	564
	11 921 681 001	6x100 mL 60 blots 100 cm <sup>2</sup> membrane	6折	3,426	2,056
BM Chemiluminescence Western Blotting Kit (Mouse/Rabbit)	11 520 709 001	1 kit 2,000 cm² membrane	6折	4,477	2,686
BM Chemiluminescence Western Blotting Substrate (POD)	11 500 708 001	1 kit 1,000 cm² membrane	6折	1,775	1,065
	11 500 694 001	1 kit 4,000 cm <sup>2</sup> membrane	6折	3,700	2,220

更多相关信息,请访问www.complete.roche.com



订购全套MIQE合规试剂盒: High Pure系列RNA纯化试剂盒1个

- + Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (200次包装) 1个
- + FastStart / LightCycler® qPCR
  MasterMix (50ml 包装) 1个,
  即可获赠维氏瑞士军刀-U盘套装 1套。\*\*

<sup>\*\*</sup>每笔订单满足条件即可获得赠品,一笔订单仅可获得一个赠品,恕不重复赠送。 \*\*订单必须于2014年4月1日至2014年6月30日间收到。

# 多重一步法qRT-PCR

### RNA病毒的"保障性"检测方案

RNA病毒检测需要其"保障性":保证低拷贝病毒的灵敏检出,保证没有假阴性检测结果判断,保证实验人员以安全便捷的方式获得检测结果。

*NEW* LightCycler® Multiplex RNA Virus Master能帮助您获得高效反转录,以及性能优异的**多重**一步法qPCR检测

- 强效酶活 独特的重组反转录酶,能从各类困难样品来源高效反转病毒RNA (如全血, 血浆, 血清, 和粪便样品)。
- 检测特异且快速 契合寡聚物介导的热启动聚合酶。1s激活反应。
- 匹配自动化检测 反转录酶和AptaTag Fast DNA聚合酶均具有极好的热稳定性。
- 对于多重病毒检测,无需优化反应体系和程序,且反应程序与DNA病毒检测可同步在qPCR系统上运行。

NEW RNA Process Control Kit严格执行假阴性检测判断标准,RT-qPCR的结果解释就是不能含糊!

病毒检测的阴性结果可能来源于核酸纯化过程的核酸降解或PCR反应的抑制物存在,将Control RNA加入样品同步进行核酸抽提和后续检测过程。防止假阴性结果解释!

- 便于保存和使用 Control RNA能防核酸酶降解,能直接加入原始样本材料同步处理。
- 无错 严格设计的RNA序列不会在分析过程中干扰或与靶病毒序列竞争;特定的Control RNA浓度设计, 检测得到特定Cq值范围。
- 保证实验结果的可重复性和可靠性 标准化的生产过程和浓度, 试剂盒中提供LightCycler® Multiplex RNA Virus Master 保障检测可靠性。

获取更多新品信息: www.roche-applied-science.com/qpcr

### 双重qPCR检测结果:

应用LightCycler® Multiplex RNA Virus Master检测人总RNA纯化样品,总RNA模板梯度稀释,在20 μL的反应体系中每孔模板 浓度分别为:50 ng, 5 ng, 500 pg, 50 pg, 10 pg;并运行无模板对照 (NTC)。检测片段为G6PD (FAM荧光检测) 和 β2M (Yellow555 荧光检测)。检测平台:LightCycler® 480 Instrument。

#### **FAM** channel (465/510)

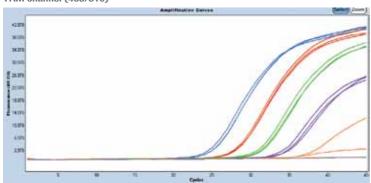


图3: FAM通道的G6PD检测结果. 标准曲线制作的模板浓度: 每孔50 ng (蓝色), 5 ng (红色), 500 pg (绿色), 50 pg (紫色),和 10 pg (橙色)人总RNA。灰色为阴性对照。

#### Yellow555 channel (533/580)

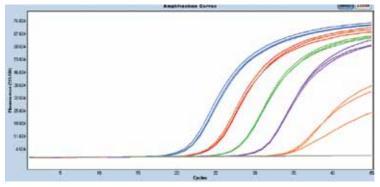


图4: Yellow555通道的 ß2M检测结果. 标准曲线制作的模板浓度: 每孔50 ng (蓝色), 5 ng (红色), 500 pg (绿色), 50 pg (紫色), 和10 pg (橙色)人总RNA。灰色为阴性对照。

# 罗氏LightCycler®系统专用耗材

LightCycler<sup>®</sup>八联管,确保极佳的导热性。

- · 获得PCR反应的高灵敏度和高重复性。
- 严格质控, 防止假阳性检测。
- 白管——确保检测灵敏度,透明管——加速加样流程。



专为LightCycler® 480系统配套的八联管适配器 LightCycler® 8-Tube Strip Adapter Plate

耗材名称	订购货号	产品规格
LightCycler® 8-Tube Strip Adapter Plate	06 612 598 001	1 adapter plate
LightCycler® 8-Tube Strips (clear)	06 327 672 001	120 clear tube strips and cap strips
LightCycler® 8-Tube Strips (white)	06 612 601 001	120 strips

### 试剂特惠时间: 2014年4月1日 - 2014年6月30日

6折 DNA/RNA纯化试剂

**6折起** 反转录试剂 **7折 qPCR**试剂

6折起 蛋白纯化试剂

6折起 WB检测试剂

敬请关注罗氏同期市场活动:全国各区的qPCR技术应用培训班 罗氏细胞转染试剂和LightCycler\*系统试剂火热促销中,更多优惠活动,请联系罗氏生命科学部销售人员。

#### 立即订购特惠产品,请在订单信息中注明活动编号PROMO-AJ14

免费订货热线: 800-820-3361 或 400-820-3361

免费技术咨询: 800-820-0577 或 asc.support@roche.com

传真: 021-3397 1888 | 邮箱: china.as@roche.com

#### 商标

HIGH PURE, LIGHTCYCLER, FASTSTART, COMPLETE

以及TRIPURE为罗氏公司注册商标。

其他品牌或产品名称为其各自商标的持有者所有。 所有试剂仅供生命科学研究试用,不可用于诊断程序。

#### 关于本手册中的产品建议销售价格:

产品的具体价格以当地经销商报价为准,建议价格仅限参考。如您对产品有兴趣。请联系罗氏当地经销商获取更多信息。

罗氏诊断产品(上海)有限公司

上海

上海市淮海中路1045号

准海国际12楼 电话:021-3397 1000

传真:021-3397 1888 邮编:200031

电邮: china.as@roche.com

北京

北京市东长安街1号东方广场 东方经贸城中二办公楼609室

电话:010-8515 4100 传真:010-8515 4188 邮编:100738

电邮:china.as@roche.com

广州

广州市环市东路403号 广州国际电子大厦25楼 电话:020-8713 2600 传真:020-8713 2700

传具:020-8/13 2/00 邮编:510095

№編:510095

电邮: china.as@roche.com

© 2014 Roche Diagnostics Limited