



*仅用于实验室，不用于诊断。请随时跟我们索取并使用最新版本的说明书。

快速MS-qPCR试剂盒

非常适合于少量甲基化DNA的实时荧光定量扩增实验，即qMSP。整个实验时间仅需要70分钟。【学习更多视频请关注视频号：艾维缔®；哔哩哔哩：IVDSHOW®；抖音：军哥聊表观。】

目录号： A-P-1028-100（100次、200次）

操作手册

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！

同时，有翻译不妥的地方还请各位老师批评指正！【欢迎 +VX:hugasis 交流】

反馈信箱：1951545998@qq.com



扫我收藏分享，还有机会拿红包哦！



艾德科技(北京)有限公司
A&D Technology Corporation



目录表

目录表	2
试剂盒组成	3
运输和保存	3
配套器材(自备)	3
重点提示	3
说明	4
一般特性	4
产品简介	5
原理/步骤	6
用法	7
操作手册	7
PCR 反应的准备	7
提示：对于阴性对照，使用 DNA/RNA-free water 代替 DNA 模板即可。	7
PCR 反应的程序	7
疑难解答	8
推荐产品	9
如何下单	9

试剂盒组成

内容	A-P-1028-100	A-P-1028-200	保存条件
Master Mix (2X) *	1瓶 (每管1.0ml)	2瓶 (每管1.0ml)	-20°C
DNA/RNA-free Water (双蒸水)	1瓶 (每管1.2ml)	2瓶 (每管1.2ml)	-20°C
对照引物 (β -actin) *			
上游引物 (100 μ M) *	8 μ l	20 μ l	-20°C
下游引物 (100 μ M) *	8 μ l	20 μ l	-20°C
使用手册	1	1	常温

*为了获得产品的最大回收率，在打开瓶盖之前，先解冻并离心至管底。

运输和保存

该试剂盒带冰袋在4°C条件下冰袋运输，在您收到产品后应立刻在-20°C保存。

注意：在合适的保存情况下，所有的产品组件有效期至少是12个月，自收货之日算起。

配套器材(自备)

- 实时荧光定量PCR仪
- PCR反应板和薄壁PCR管
- EpiBox可调移液器和EpiBox吸头

重点提示

使用:

快速MS-qPCR试剂盒非常适合使用少量的DNA做甲基化特异性qPCR的扩增。

在使用快速MS-qPCR试剂盒对于在MS-qPCR中至少50pg的DNA，对于PCR循环数应大于45。

对照试剂的加入，可确保PCR引物特异性的结合修饰过的DNA和甲基化的DNA。通过提高引物-亚硫酸氢盐 DNA模板间的退火效率来提高了MS-qPCR的灵敏度和特异性，省时高效。对于亚硫酸氢盐 DNA，特异的加入了一对 β -actin引物。可以区分修饰后的DNA和未修饰的DNA。

预防措施:

为了降低在 PCR 扩增过程中的风险，在构建 PCR 反应时，我们建议实验人员应带一次性干净的手套和使用带滤芯的吸头。



说明

一般特性

质控:

每批快速MS-qPCR试剂盒的生产,对既定的各个组件的生产把控,确保了稳定的产品质量。保证所有产品的性能描述都符合行业的产品标准。

质量保证:

此品如果没有达到您的实验期望,可以给我们的技术发送邮件到:1951545998@qq.com。我们也鼓励您随时与我们联系,如果您有任何意见或新的应用领域及产品性能和技术。

安全:

对于实验人员工作时,实验室应配备安全的外套,一次性手套,和适当的防护眼罩

产品更新:

A&D Technology Corporation有权更改或修改任何产品,以提高其性能和设计。这个操作指南的信息是可能随时变更,恕不另行通知。因此,此使用指南仅为提供此品用户时配套使用。

使用限制:

快速MS-qPCR试剂盒是为研究用途,不适合诊断或治疗的应用。

知识产权:

快速MS-qPCR试剂盒中使用的原理和方法,我司有产品使用的追索权。



产品简介

在基因表达、肿瘤发生、其他遗传和表观遗传疾病中，DNA甲基化扮演着极为重要的角色。尤其在癌症方面。因此，在一些基因检测甲基化病变的细胞中可以提供非常有用的信息。在最近几年，对于基因序列检测与甲基化的检测开发了很多的方法。其中MS-PCR是最常用的。通过亚硫酸氢盐将胞嘧啶转化成尿嘧啶，能够特异性的与甲基化的引物结合并扩增。

能否特异性的扩增甲基化的DNA就成为一个很大的挑战。因原始序列中富含GC的胸腺嘧啶冗长，对于使用聚合酶来识别就变的很难。因此，扩增是很难的，因为特异性的扩增和在化学转化后减少引物的结合时间，这需要花费很长时间。

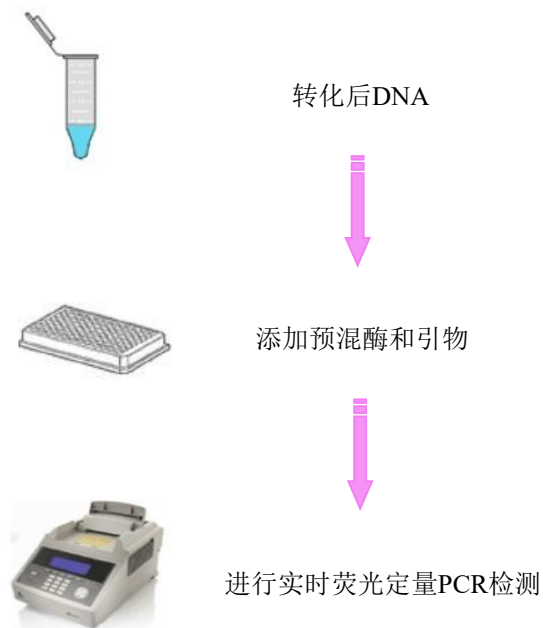
我司提供的快速MS-qPCR试剂盒提供了一整套试剂和方法，来解决以上遇到的问题。这个试剂盒可进行甲基化特异定量PCR，操作简便，快捷，灵敏度高，可重复利用。试剂盒中新型的热启动DNA聚合酶可以减少MS-qPCR所需的循环数，使实验过程从近2.5小时缩短到不超过70分钟。本试剂盒适用于使用痕量的DNA进行快速甲基化特异性定量PCR。试剂盒通过提高引物-亚硫酸氢盐 DNA模板间的退火效率来提高了MS-qPCR的灵敏度和特异性，省时高效。这个结果可以保证在很长时间内储存并更高效地进行MS-qPCR。

快速MS-qPCR试剂盒 具有以下特点：

- 极其快速的试剂盒，70分钟内完成反应。
- 高扩增效率获得丰富的产物。
- 高精度和对MSP的特异性，降低假阳性概率。
- 方便的混合缓冲液模式使得配置反应体系更加简单。
- 操作简便、结果可靠、统一的分析条件。
- 可用于所有基于模块的实时PCR设备。

原理/步骤

快速MS-qPCR试剂盒提供了预混好的酶系统，包括了热启动DNA聚合酶，dNTPs，一个MS-PCR增强剂，优化的缓冲液系统和预装的绿色染料。这个预混系统容许为了方便与简便进行设置的。独特的热启动DNA聚合酶的活性是需要95°C下花几分钟来重新激活，这样很容易地通过热循环仪来集成。热启动DNA聚合酶结合优化缓冲液系统保证了定量聚合反应的特异性和灵敏度。绿色染料允许进行DNA检测和分析，无需再使用特异性的探针。



采用快速MS-qPCR试剂盒操作流程图

用法

操作手册

PCR 反应的准备

1. 解冻所有的产品组件包括master mix, DNA/RNA free water, primer solution and DNA template。使用涡旋仪简单混合。在使用时，保证所有组件均在冰上操作，并在使用完后立刻放在-20℃保存。
2. 根据下面的步骤加每个组件到孔中。

Component	Size (μL)	Final Concentration
Methylamp Master Mix(2X)	10 μL	1X
Forward Primer	1 μL	0.4-0.5 μM
Reverse Primer	1 μL	0.4-0.5 μM
DNA Template	1-2 μL	50pg-0.1 μg
DNA/RNA-free H ₂ O	6-7μL	
Total Volume	20 μL	

提示：对于阴性对照，使用 DNA/RNA-free water 代替 DNA 模板即可。

PCR 反应的程序

3. 将反应板子放入PCR仪中。
4. 使用如下表来设置PCR的反应条件：

Cycle Step	Temp	Time	Cycle
Activation	95°C	60 sec	1
Cycling	95°C	15 sec	40-50
	55°C	30 sec	
Final Extension	60-95°C	Various	1

疑难解答

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
较少或没有扩增产物	引物不正确	检查引物设计是否正确。按照操作手册中规定的顺序来添加试剂, 是否程序中的某些步骤被忽略了。
	引物降解或引物浓度不理想	按照每增加 0.1 uM 增量, 使用不同的引物浓度重复 PCR。
	亚硫酸氢处理的 DNA 较少或是 DNA 的输入量不够	检查试剂盒中的 PCR 引物的特异性和 β -actin 对照的可信性。增加 DNA 的输入量。如有必要使用新的亚硫酸氢处理的 DNA, 并用新模板重复 PCR 的步骤。
	DNA 降解了	使用前检查 DNA 是否解冻或 DNA 是否被修饰。
	不正确的 PCR 程序设置包括变性、退火/扩增、时间/温度和 PCR 的周期数不足。	检查变性、退火/扩增、时间/温度、是正确的。增加 PCR 的循环数。
	热启动酶没有被激活	起始温度是在 95°C 下, 7-9 分钟来激活酶。
	移液器错误或漏加试剂	检查试剂的浓度和储存条件, 包括引物。确保 master mix 与 primer-templates 的比是 1:1。
	仪器和 PCR 板子的问题	检查荧光定量 PCR 的电源是否打开和 PCR 板子是否在仪器中放好。
非特异性扩增	PCR 的循环数太多	通过减少循环数来消除非特异性扩增。
	模板的浓度太高	在扩增亚硫酸盐处理的 DNA 时, 在反应中模板的初始浓度的混合物不应超过 100ng 每 20 μ l 的反应体积。
	亚硫酸盐处理的 DNA 不足	检查试剂盒中的 PCR 引物的特异性和 β -actin 对照的可信性。增加 DNA 的输入量。如有必要使用新的亚硫酸氢处理的 DNA, 并用新模板重复 PCR 的步骤。
	引物设计不理想	检查引物设计。是否专门为亚硫酸盐处理后的 DNA 而设计, 需要确认准确的序列信息。根据 MS-PCR 引物或使用 Methyl Primer 的指引来重新设计引物



推荐产品

型号	品名	规格
A-P-1026	DNA 甲基化极速修饰试剂盒	50 次、200 次
A-P-1016	DNA 甲基化直接修饰试剂盒	40 次、80 次
A-P-1029	快速 qPCR 试剂盒	100 次、200 次
A-P-1015	MeDIP 试剂盒	24 次、48 次
A-P-1030	总体 DNA 甲基化极易定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1032	总体 DNA 羟甲基化极易定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1035	DNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-1037	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-1038	hMeDIP 试剂盒	48 次、96 次
A-P-1039	尿液 5-甲基胞嘧啶定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1040	尿液 5-甲基胞嘧啶定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-1041	DNA 甲酰基定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-3140	APOBEC3 胞苷脱氨酶活性/抑制分析试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-3142	APOBEC3A 活性/抑制分析试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-9005	m6A RNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-9010	m6A DNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-9016	m6A RNA 甲基化文库构建试剂盒(测序版)	12 次、24 次
A-P-9018	m6A RNA 甲基化片段富集试剂盒(qPCR 版)	48 次、96 次
A-P-1030	总体 DNA 甲基化极易定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次

如何下单

1. 电话, 传真或邮件订购:

电话: 0313-5935521; 热线: 0313-5935520;

邮件: 1951545998@qq.com

2. 在线定单订购:

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1771&t=1474>



推荐阅读

1. RNA 甲基化修饰和定量？惊呆了我和小伙伴们！！
<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30829>
2. 艾德科技史上最全表观遗传学产品线与服务，让你的研究冰爽一“夏”！
<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=27858>
- 3.“利器”在手！无问西东！！把失去的都抢回来！！
<http://www.ivdshow.cn/news/2.html>
4. ECL 超亮之“星”，就是 WESTAR HYPERNOVA，预混 ECL，选 WESTAR-ONE 就对了！
<http://www.ivdshow.cn/news/44.html>
5. 厉害了！！我的 m6A!!!
<http://www.ivdshow.cn/news/16.html>
6. 独有的核酸和蛋白质纯化富集
<http://www.ivdshow.cn/news/1.html>



公众号：IVDSHOW®



订阅号：Bio-888



艾德科技（北京）有限公司
A&D Technology Corporation

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米艾德院（102206）

电 话：0313-5935521

热 线：0313-5935520

网 址：www.aderr.com

Email:1951545998@qq.com