



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## Human EHHADH qPCR Primer Pair

| 产品编号     | 产品名称                          | 包装   |
|----------|-------------------------------|------|
| QH02513S | Human EHHADH qPCR Primer Pair | 200次 |

### 产品简介:

- Human EHHADH qPCR Primer Pair, 即人EHHADH qPCR引物对, 主要用于基于SYBR Green的qPCR、One-Step qRT-PCR或semi-quantitative PCR。本引物为预先设计、经过qPCR验证、预混的引物对。
- qPCR (Quantitative PCR)即定量PCR, 也称实时荧光定量PCR或实时定量PCR (Real-time quantitative PCR)、实时PCR (Real-time PCR), 是一种在DNA扩增反应过程中, 以荧光定量测定每个聚合酶链式反应(PCR)循环后产物总量的方法。qPCR常用的两种方法是SYBR Green等荧光染料法和探针法。SYBR Green等荧光染料法是使用带有荧光的、非特异的DNA结合染料SYBR Green等以检测PCR过程中积累的PCR扩增产物; 而探针法(Probe method), 也被称为TaqMan探针法, 不使用荧光染料, 而采用荧光基团和淬灭基团(Quencher)标记的DNA探针靶向拟通过PCR检测的目标序列[1,2]。
- 对于SYBR Green等染料法, 引物至关重要。本系列引物产品采用碧云天开发的引物设计算法, 优化了序列并经过验证, 特异性佳, 扩增效率高, 引物二聚体形成发生率低, qPCR数据可靠; 本系列引物对一般都跨外显子(Span exon junctions), 避免了对基因组DNA (gDNA)的扩增[3,4]; 本系列的引物产品非常丰富, 几乎包含了所有人和小鼠的基因; 引物的Tm值约60°C, 大多数扩增产物(Amplicon)的长度约90-160bp。同时碧云天还提供针对各个信号通路的引物组合(Primer Panel/Primer Array)。
- 本产品为预混冻干粉, 每管含正向引物(Forward primer, 也称上游引物)和反向引物(Reverse primer, 也称下游引物)各1nmol, 共2nmol, 不含核酸酶(Nuclease-free), 只需加入400μl超纯水溶解成2.5μM each, 即可使用。按20μl或25μl体系使用2μl引物, 本产品每管可以用于200次qPCR实验。

| Gene Information    |   |
|---------------------|---|
| Gene Name           | enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase   |
| Gene Symbol         | EHHADH  |
| Synonyms            | LBP; ECHD; LBFP; MFE1; PBF; FRTS3; L-PBE  |
| Organism            | Human   |
| Gene ID             | 1962  |
| UniProt ID          | Q08426  |
| Main Accession No.  | NM_001966   |
| Other Accession No. | BC027486, NM_001166415, NM_001966, NM_001966.1, NM_001966.2, NM_001966.3, NM_001166415.1, BC038948, BC038948.1, BC011030, BC030982, BC110460, NM_001966.4   |
| Map Location        | 3q26.3-q28  |
| Pathway             | Fatty Acid Pathway  |
| Gene Summary        | The protein encoded by this gene is a bifunctional enzyme and is one of the four enzymes of the peroxisomal beta-oxidation pathway. The N-terminal region of the encoded protein contains enoyl-CoA hydratase activity while the C-terminal region contains 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase activity. Defects in this gene are a cause of peroxisomal disorders such as Zellweger syndrome. Two transcript variants encoding different isoforms have been found for this gene. [provided by RefSeq, Oct 2009] |

| Amplicon Information  |                    |
|-----------------------|--------------------|
| Amplicon Length (bp)  | 130                |
| NCBI mRNA ID          | NM_001966.4        |
| NCBI Protein ID       | NP_001957.2        |
| Ensembl Transcript ID | ENST00000231887.8  |
| Ensembl Gene ID       | ENSG00000113790.11 |
| Ensembl mRNA ID       | EHHADH-201         |

### 产品包装:

| 产品编号     | 产品名称                          | 包装         |
|----------|-------------------------------|------------|
| QH02513S | Human EHHADH qPCR Primer Pair | 1nmol each |
| —        | 说明书                           | 1份         |

## 保存条件：

-20°C保存。建议复溶后进行适当分装，避免反复冻融。

## 注意事项：

- PCR扩增产物的长度可能会因基因转录后存在多种剪接形式而有所差异。
- 虽然本系列引物产品的特异性非常好，但仍建议进行熔解曲线(Melt curve)分析以确定扩增反应的特异性。如果只有一个熔解曲线峰(对应的退火温度即双链DNA产物的T<sub>m</sub>值)，说明只有一种单一产物；如果熔解曲线出现双峰、多峰或杂峰峰，可能是引物二聚体或非特异性扩增、存在基因组DNA污染、试剂及环境被污染等。建议设置不含模板的对照(No template control, NTC)，即反应体系中包含除模板以外的所有反应组分，根据样品孔和无模板对照孔熔解曲线的差异，可判断是否存在引物二聚体或其它的非特异性扩增。
- 若反应体系存在扩增产物污染，推荐使用防污染型qPCR Mix。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用方法：

### 1. PCR反应体系的设置：

- 开启本产品前，3000-8000×g离心1分钟，以防开盖时引物干粉散失。每管加入400μl超纯水，先盖好盖子颠倒混匀数次，然后离心机快速离心几秒，开盖后再轻轻吹打混匀，即得400μl 2.5μM each的Primer Mix。超纯水推荐使用BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。
- 融解并混匀PCR反应所需的各种溶液。SYBR Green qPCR Mix需完全融解并混匀后置于冰浴上或冰盒内。推荐使用BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X) (D7260/D7262/D7265)、BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (D7268)、BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, 防污染型) (D7501/D7503/D7507)或BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (防污染型) (D7509)。
- 参考下表在室温或冰浴上设置PCR反应体系，以96孔板和BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)为例。

| Reagent                  | Volume for One PCR Reaction |
|--------------------------|-----------------------------|
| SYBR Green qPCR Mix (2X) | 10μl                        |
| Primer Mix (2.5μM each)  | 2μl                         |
| Template DNA             | 2μl                         |
| RNase-Free Water         | 6μl                         |
| Total Volume             | 20μl                        |

注1：通常引物的终浓度为0.2-0.5μM each时可获得良好的检测效果，也可根据情况在0.1-1.0μM each范围内调整引物的终浓度。

注2：通常DNA模板的量以1-10ng cDNA为参考用量。因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同，如有必要，可加大模板用量或对模板进行梯度稀释，以确定最佳的模板使用量。RT-PCR反应得到的cDNA直接作为模板时，其添加量不要超过PCR反应总体积的10%。

注3：96孔板的推荐反应体系为20μl，也可以根据实际实验需求，按比例扩大或缩小反应体系。

注4：建议设置不加模板的阴性对照组。

- 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀，室温离心数秒，使液体积聚于管底。推荐使用BeyoFuge™基础型微孔板离心机(垂直式, 2500rpm) (E6758)进行快速离心。
- 将设置好的PCR反应管或PCR反应板置于荧光定量PCR仪上，开始定量PCR反应。

### 2. PCR反应程序：

在Real-time PCR反应前进行模板的预变性，通常设定为95°C 2分钟，复杂或高GC模板适当延长时间至5-10分钟。本程序是以ABI QuantStudio™ 6 Flex荧光定量PCR仪为例：

- 预变性：95°C 2分钟；
- 变性：95°C 15秒；
- 退火/延伸：60°C 15-30秒；
- 重复步骤b和步骤c，总共40个循环；
- 熔解曲线分析(可选)：95°C 15秒, 60°C 15秒, 95°C 15秒；
- 使用荧光定量PCR仪提供的软件分析结果。

注：以上举例为常规qPCR反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。上述为两步法qPCR，如果采用三步法qPCR，只需在退火/延伸后加一步72°C 30秒，随后重复步骤b、c及增加的这一步骤共40个循环即可。

## 参考文献:

1. Marilynn R Fairfax, Hossein Salimnia. Molecular Diagnostics. 2010. Pages 3-14.
2. Cao H, Shockey JM. J Agric Food Chem. 2012. 60(50):12296-303.
3. Thornton B, Basu C. Methods Mol Biol. 2015. 1275:173-9.
4. Bustin SA, Mueller R, Nolan T. Methods Mol Biol. 2020. 2065:5-22.
5. Kozera B, Rapacz M. J Appl Genet. 2013. 54(4):391-406.
6. da Conceição Braga L, Gonçalves BÔP, Coelho PL, et al. Acta Histochem. 2022. 124(1):151821.
7. Laurell H, Iacovoni JS, Abot A, Svec D, Maoret JJ, et al. Nucleic Acids Res. 2012. 40(7):e51.

## 相关产品:

### 1. 人内参引物对:

| 产品编号    | 产品名称                            | 包装             |
|---------|---------------------------------|----------------|
| QH00001 | Human ACTB qPCR Primer Pair     | 200/1000/5000次 |
| QH00005 | Human B2M qPCR Primer Pair      | 200/1000次      |
| QH00009 | Human GAPDH qPCR Primer Pair    | 200/1000/5000次 |
| QH00013 | Human GUSB qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00017 | Human HCK qPCR Primer Pair      | 200/1000次      |
| QH00021 | Human HMBS qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00025 | Human HPRT1 qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QH00029 | Human HSP90AA1 qPCR Primer Pair | 200/1000次      |
| QH00033 | Human HSP90AB1 qPCR Primer Pair | 200/1000次      |
| QH00037 | Human LDHA qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00041 | Human NONO qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00045 | Human PGK1 qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00049 | Human PPIA qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00053 | Human RPL30 qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QH00057 | Human RPLP0 qPCR Primer Pair    | 200/1000/5000次 |
| QH00061 | Human RPLP1 qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QH00065 | Human SDHA qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00069 | Human TBP qPCR Primer Pair      | 200/1000次      |
| QH00073 | Human TFRC qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00077 | Human YWHAZ qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QH00081 | Human PPIH qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QH00085 | Human RPL13A qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QH00089 | Human TUBB qPCR Primer Pair     | 200/1000/5000次 |
| QH00093 | Human RNA18S5 qPCR Primer Pair  | 200/1000次      |

注: 推荐使用GAPDH、RPLP0、ACTB、TUBB和B2M作为内参, 但如果这三者无法满足实验需求, 可以尝试使用HPRT1或RNA18S5作为内参。为达到满意的实验效果, 上述引物均可尝试使用[5-6]。

### 2. 小鼠内参引物对:

| 产品编号    | 产品名称                            | 包装             |
|---------|---------------------------------|----------------|
| QM00002 | Mouse Actb qPCR Primer Pair     | 200/1000/5000次 |
| QM00006 | Mouse Rplp0 qPCR Primer Pair    | 200/1000/5000次 |
| QM00010 | Mouse B2m qPCR Primer Pair      | 200/1000次      |
| QM00014 | Mouse Gapdh qPCR Primer Pair    | 200/1000/5000次 |
| QM00018 | Mouse Hck qPCR Primer Pair      | 200/1000次      |
| QM00022 | Mouse Hmbs qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QM00026 | Mouse Hprt qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QM00030 | Mouse Hsp90ab1 qPCR Primer Pair | 200/1000次      |
| QM00034 | Mouse Hsp90aa1 qPCR Primer Pair | 200/1000次      |
| QM00038 | Mouse Ldha qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QM00042 | Mouse Pgk1 qPCR Primer Pair     | 200/1000次      |
| QM00046 | Mouse Rn18s qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QM00050 | Mouse Rpl30 qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |

|         |                               |                |
|---------|-------------------------------|----------------|
| QM00054 | Mouse Tbp qPCR Primer Pair    | 200/1000次      |
| QM00058 | Mouse Tfrc qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QM00062 | Mouse Rpl13a qPCR Primer Pair | 200/1000次      |
| QM00066 | Mouse Tubb4a qPCR Primer Pair | 200/1000/5000次 |
| QM00070 | Mouse Ywhaz qPCR Primer Pair  | 200/1000次      |
| QM00074 | Mouse Nono qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QM00078 | Mouse Rplp1 qPCR Primer Pair  | 200/1000次      |
| QM00082 | Mouse Ppih qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QM00086 | Mouse Sdha qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QM00090 | Mouse Gusb qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |
| QM00094 | Mouse Ppia qPCR Primer Pair   | 200/1000次      |

注：推荐使用Gapdh、Rplp0、Actb、Tubb和B2m作为内参，但如果这三者无法满足实验需求，可以尝试使用Hprt1或Rn18s作为内参。为达到满意的实验效果，上述引物均可尝试使用[5-6]。

3. 基因组DNA (gDNA)引物对(用于gDNA污染检测):

| 产品编号    | 产品名称                   | 包装        |
|---------|------------------------|-----------|
| QH00101 | Human HGDC Primer Pair | 200/1000次 |
| QM00098 | Mouse MGDC Primer Pair | 200/1000次 |

注：To obtain reliable qPCR data, genomic DNA contamination should be tested by qPCR with genomic DNA contamination primer pair [7].

4. SYBR Green qPCR Mix及耗材:

| 产品编号          | 产品名称   | 包装            |
|---------------|--|---------------|
| D7260         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X)                 | 1/5/25ml      |
| D7262         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, Low ROX)        | 1/5/25ml      |
| D7265         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, High ROX)       | 1/5/25ml      |
| D7268         | BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit          | 100/500次      |
| D7501         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, 防污染型)           | 1/5/25ml      |
| D7503         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, Low ROX, 防污染型)  | 1/5/25ml      |
| D7507         | BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, High ROX, 防污染型) | 1/5/25ml      |
| D7509         | BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (防污染型)   | 100/500次      |
| FASA011-1pc   | BeyoGold™封板膜刮板                                     | 1个/袋          |
| FSF002        | 荧光定量PCR用封板膜(ABI分装)                                 | 20片/包装        |
| FSF035-100pcs | BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型)                          | 100片/包装       |
| FSF039-20pcs  | BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)                    | 20片/包装        |
| FSF039-100pcs | BeyoGold™荧光定量PCR用封板膜(压敏型, 进口分装)                    | 100片/包装       |
| FTUB325-1box  | BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明)                  | 125排/盒        |
| FTUB325-10bxs | BeyoGold™ qPCR八联排管(0.2ml, 平盖, 透明)                  | 125排/盒, 10盒/箱 |
| FTUB333       | 荧光定量PCR用96孔板(ABI原装)                                | 20片/包装        |
| FTUB384       | 荧光定量PCR用384孔板(ABI分装)                               | 20片/包装        |
| FTUB335-1box  | BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)              | 10个/盒         |
| FTUB335-5bxs  | BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 无裙边, 透明)              | 10个/盒, 5盒/箱   |
| FTUB337-1box  | BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)              | 10个/盒         |
| FTUB337-5bxs  | BeyoGold™荧光定量PCR用96孔板(0.2ml, 半裙边, 透明)              | 10个/盒, 5盒/箱   |

Version 2023.08.22