



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

## Mouse Col4a4 qPCR Primer Pair

产品编号	产品名称	包装
QM11310S	Mouse Col4a4 qPCR Primer Pair	200次

### 产品简介:

- Mouse Col4a4 qPCR Primer Pair, 即小鼠Col4a4 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), 也常被称为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	collagen, type IV, alpha 4
Gene Symbol	Col4a4
Synonyms	[a]4(IV); E130010M05Rik
Organism	Mouse
Gene ID	12829
UniProt ID	Q9QZR9
Main Accession No.	NM_007735
Other Accession No.	NM_007735, NM_007735.1, NM_007735.2, BC038814, BC117709
Map Location	1; 1 C5
Pathway	-
Gene Summary	An extracellular matrix structural constituent. Acts upstream of or within glomerular basement membrane development. Located in basement membrane. Part of collagen type IV trimer. Is expressed in glomerular tuft and testis. Used to study autosomal recessive Alport syndrome. Human ortholog(s) of this gene implicated in autosomal recessive Alport syndrome; benign familial hematuria; and end stage renal disease. Orthologous to human COL4A4 (collagen type IV alpha 4 chain). [provided by Alliance of Genome Resources, Apr 2022]

Amplicon Information	
Amplicon Length (bp)	122
NCBI mRNA ID	NM_007735.2
NCBI Protein ID	NP_031761.1
Ensembl Transcript ID	ENSMUST000000087050.7
Ensembl Gene ID	ENSMUSG000000067158.10
Ensembl mRNA ID	Col4a4-201

### 产品包装:

产品编号	产品名称	包装
QM11310S	Mouse Col4a4 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