



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 MLKL qPCR Primer Pair

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-----------------------------|------|
| QH67601S | Human MLKL qPCR Primer Pair | 200次 |

产品简介:

- Human MLKL qPCR Primer Pair, 即人MLKL 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 | mixed lineage kinase domain like pseudokinase |
| Gene Symbol | MLKL |
| Synonyms | hMLKL |
| Organism | Human |
| Gene ID | 197259 |
| UniProt ID | Q8NB16 |
| Main Accession No. | NM_152649 |
| Other Accession No. | NM_001142497, NM_152649, NM_152649.1, NM_152649.2, NM_152649.3, NM_001142497.1, NM_001142497.2, BC028141, BQ575071, NM_001142497.3, NM_152649.4 |
| Map Location | 16q23.1 |
| Pathway | - |
| Gene Summary | This gene belongs to the protein kinase superfamily. The encoded protein contains a protein kinase-like domain; however, is thought to be inactive because it lacks several residues required for activity. This protein plays a critical role in tumor necrosis factor (TNF)-induced necroptosis, a programmed cell death process, via interaction with receptor-interacting protein 3 (RIP3), which is a key signaling molecule in necroptosis pathway. Inhibitor studies and knockdown of this gene inhibited TNF-induced necrosis. High levels of this protein and RIP3 are associated with inflammatory bowel disease in children. Alternatively spliced transcript variants have been described for this gene. [provided by RefSeq, Sep 2015] |

| Amplicon Information | |
|-----------------------|--------------------|
| Amplicon Length (bp) | 127 |
| NCBI mRNA ID | NM_152649.4 |
| NCBI Protein ID | NP_689862.1 |
| Ensembl Transcript ID | ENST00000308807.12 |

| | |
|-----------------|--------------------|
| Ensembl Gene ID | ENSG00000168404.13 |
| Ensembl mRNA ID | MLKL-202 |

产品包装:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|-----------------------------|------------|
| QH67601S | Human MLKL 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_m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:

- a. 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)。
- b. 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)。
- c. 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。

- d. 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。
- e. 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:

- a. 预变性: 95°C 2分钟;
- b. 变性: 95°C 15秒;
- c. 退火/延伸: 60°C 15-30秒;
- d. 重复步骤b和步骤c，总共40个循环;
- e. 熔解曲线分析(可选): 95°C 15秒, 60°C 15秒, 95°C 15秒;
- f. 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Hpvt1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