

## 案例一：梯度稀释 cDNA 比较两家 qPCR 试剂产品性能、性价比

[数据提供：中国科学院生物化学与细胞生物学研究所，刘老师，研究方向：非编码 RNA 在癌症发生和精子发生中的功能机制]

### 目的：

比较两家厂商 qPCR 试剂性能和性价比，重新选定稳定供应商。

### 案例材料：

细胞 cDNA

2 x S6 Universal SYBR qPCR Mix ( NovaBio # Q204 )

TB Green<sup>®</sup> *Premix Ex Taq*<sup>™</sup> (Tli RNaseH Plus) ( T\*K\*RA # RR420 )

### 体系：

按各自说明书使用：

#### NovaBio # Q204

2 x S6 Universal SYBR qPCR Mix 在冰上解冻后，混匀，按如下顺序加样：	
2 x S6 Universal SYBR qPCR mix	10 $\mu$ L
Primer-F (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L
Primer-R (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ L
Template	x $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	补足至 20 $\mu$ L

#### T\*K\*RA # RR420

试剂	使用量	终浓度
TB Green <i>Premix Ex Taq</i> (2X) (Tli RNaseH Plus), Bulk	10 $\mu$ l	1X
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M <sup>*1</sup>
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M <sup>*1</sup>
ROX Reference Dye (50X)	0.4 $\mu$ l	1X
DNA 模板 (<100 ng) <sup>*2</sup>	2 $\mu$ l	
灭菌水	6.8 $\mu$ l	
Total	20 $\mu$ l <sup>*3</sup>	

**PCR 程序：**

均采用一下程序

阶段	温度	时间	循环数
预变性	95℃	30秒	1
变性	95℃	3-10秒	
退火&延伸	60℃	10-30秒	40-45
融解曲线	使用仪器默认程序即可		1

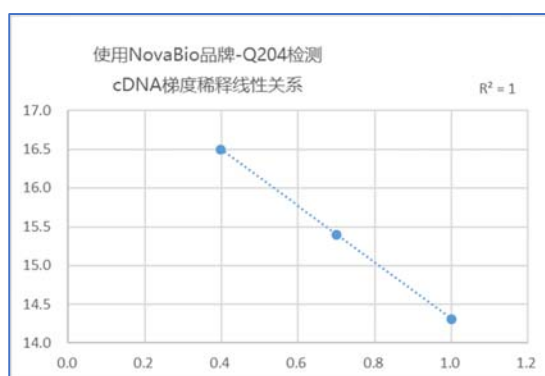
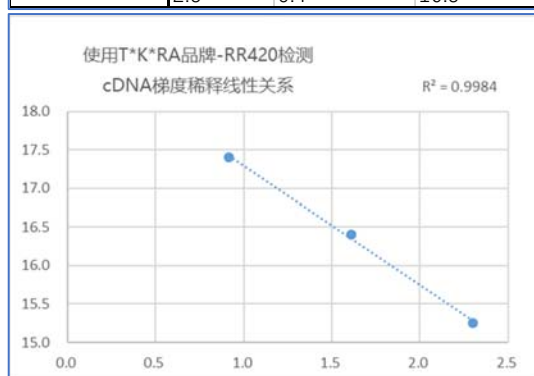
**结果：**

具体 Ct 值情况如下，最终 Ct 差值没有区别，重复性很好

	品牌货号	重复1	重复2	重复3	重复4	平均数	标准差	Ct差值
原液	T*K*RA-RR420	15.1	15.4	15.3	15.3	15.3	0.09	
	NovaBio-Q204	14.3	14.3	14.4	14.3	14.3	0.03	
2倍稀释	T*K*RA-RR420	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	0.01	1.1
	NovaBio-Q204	15.4	15.4	15.4	15.4	15.4	0.03	1.1
4倍稀释	T*K*RA-RR420	17.3	17.3	17.4	17.4	17.4	0.05	2.1
	NovaBio-Q204	16.5	16.4	16.4	16.5	16.5	0.05	2.1

梯度稀释 cDNA,试剂线性关系很好， $R^2=1$

品牌货号	浓度	浓度取Log值	Ct值平均值
T*K*RA-RR420	10	2.3	15.3
	5	1.6	16.4
	2.5	0.9	17.4
NovaBio-Q204	10	1.0	14.3
	5	0.7	15.4
	2.5	0.4	16.5



结论：两个品牌的 qPCR 试剂盒性能一致，且 2 x S6 Universal SYBR qPCR Mix ( NovaBio # Q204 ) 性价比更高。