

Code No. CY505S/A

研究用

Takara

CycleavePCR™ Starter Kit

(Code No. CY505S)

CycleavePCR™ Reaction Mix

(Code No. CY505A)

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 试剂盒原理	1
● 制品内容	2
● 保 存	2
● 试剂盒特长	2
● 操作注意事项	3
● 操作方法	3
● 实 验 例	8
● 附 录	9
● 关联产品	10
● 参考文献	10

● 制品说明

CycleavePCR Reaction Mix 是使用 Cycling Probe 进行 Real Time PCR 的专用试剂。是一种 2 倍浓度的预混型试剂，使用了 Cycling Probe 法适宜 Buffer 和 Hot Start PCR 用 DNA 聚合酶 *TaKaRa Ex Taq HS*，反应液的配制非常简单。

具有快速性和定量性的 Real Time PCR 法与检出特异性高的 Cycling Probe 法的组合，可快速、准确地对目的基因进行检出和定量，还可以进行单核苷酸多态性 (SNP) 检测。

CycleavePCR Starter Kit 在 CycleavePCR Reaction Mix 基础上，附带了 Positive Control，可用于确认试剂的反应性能。构建反应体系后，建议使用性价比高的 CycleavePCR Reaction Mix 进行反应。

本制品适用的仪器

- Thermal Cycler Dice™ Real Time System III (Code No. TP950/TP970/TP980/TP990)
- Thermal Cycler Dice Real Time System II (Code No. TP900/TP960: 终卖)
- Thermal Cycler Dice Real Time System Lite (Code No. TP700/TP760)
- Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System、StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)
- Smart Cycler System/ Smart Cycler System II (Cepheid)
- LightCycler (Roche Diagnostics)

● 试剂盒原理

CycleavePCR Reaction Mix 使用 *TaKaRa Ex Taq HS* 进行 PCR 扩增，利用 Cycling Probe 法对 PCR 产物进行实时监控。

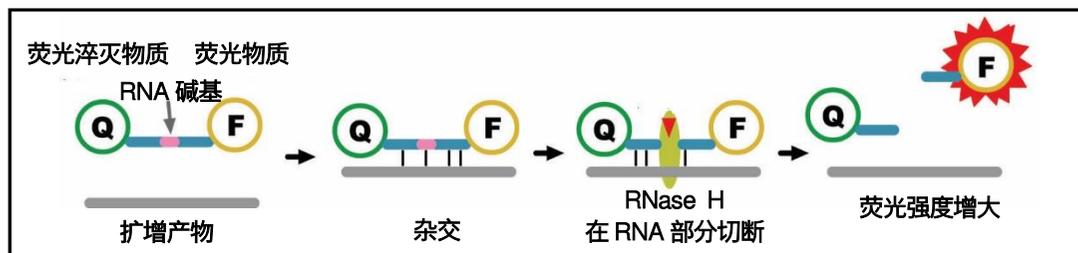
1. PCR

PCR 法是以微量的 DNA 为模板，对目的基因进行特异性扩增的技术。由模板热变性、引物退火、DNA 聚合酶延伸反应构成一个循环，重复这个循环，可以在几个小时内把目的 DNA 扩增 100 万倍以上。

本制品中的 DNA 聚合酶采用了 *TaKaRa Ex Taq HS*，有效地抑制在配制反应液时由引物错配或引物二聚体产生的非特异性扩增，可进行高灵敏度地检出。

2. Cycling Probe 法

本制品采用 Cycling Probe 法进行检测，Cycling Probe 法是由 RNA 和 DNA 构成的杂合探针与 RNase H 组合使用的高灵敏度检出法，能够高效率地检出扩增过程中及扩增结束时的目的基因片段。Cycling Probe 内部含有 RNA 碱基，一端标记荧光物质，另一端标记荧光淬灭物质，当探针处于完整状态时，由于荧光淬灭作用抑制荧光物质发出荧光，但当探针与扩增产物中的互补序列杂交后，RNase H 在 RNA 部分将探针切断，淬灭抑制作用解除，荧光物质发出荧光。通过测定荧光强度，能够实时监控扩增产物量。如果探针的 RNA 部分或 RNA 部分的一个碱基与模板不匹配，RNaseH 就不能在 RNA 部分将探针切断，所以该检出方法是一种即使一碱基不同也能识别的高特异性检出方法。



Cycling Probe 法技术原理图

● 制品内容

CycleavePCR Starter Kit (Code No. CY505S) (25 μl 反应×80 次量)

CycleavePCR Reaction Mix (2× conc.)* ¹	1 ml
ROX Reference Dye (50× conc.)* ²	200 μl
ROX Reference Dye II (50× conc.)* ²	200 μl
Positive Control* ³	10 μl
Positive Control Primer Mix (10 μM each)* ³	10 μl
Positive Control Probe (FAM/TAMRA) (25× conc.)* ^{3, 4}	10 μl
dH ₂ O	1 ml

CycleavePCR Reaction Mix (Code No. CY505A) (25 μl×400 次量)

CycleavePCR Reaction Mix (2× conc.)* ¹	1 ml×5
ROX Reference Dye (50× conc.)* ²	200 μl
ROX Reference Dye II (50× conc.)* ²	200 μl

*1: 含有 *TaKaRa Ex Taq* HS、dNTP Mixture、Mg²⁺、Tli RNaseH II。

*2: 使用在 Applied Biosystems 的 Real Time PCR 扩增仪上，用以校正孔与孔之间的荧光信号误差。

使用 ROX 标记探针时请不要使用。

◆ 需要添加 ROX Reference Dye 的仪器

- StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)

◆ 需要添加 ROX Reference Dye II 的仪器

- Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)

◆ 不需要添加 ROX Reference Dye 或 ROX Reference Dye II 的仪器

- Thermal Cycler Dice Real Time System 系列 (Code No. TP950 等)
- Smart Cycler System/Smart Cycler II System (Cepheid)
- LightCycler (Roche Diagnostics)

*3: 用于对照实验，确认试剂的反应性能。

*4: 荧光标记探针应避光保存。

试剂盒以外所需主要试剂及仪器

1. Real Time PCR 用基因扩增系统 (authorized instruments)
2. 专用反应管及反应板
3. PCR 用 Primer
4. Cycling Probe
5. 灭菌水
6. 微量移液枪及枪头 (高压灭菌)

● 保 存: -20°C。

● 试剂盒特长:

1. 利用 Real Time PCR 和 Cycling Probe 法，可快速、准确地对目的基因进行检出和定量。可用于即使一碱基不同也能识别的 SNP 解析。
2. CycleavePCR Reaction Mix 是 2 倍浓度的预混型试剂，只需加入引物、Cycling 探针、模板和灭菌水后即可进行 Real Time PCR 反应。
3. PCR 反应使用了 Hot Start 法用 DNA 聚合酶 *TaKaRa Ex Taq* HS，与适用于 Real Time PCR 的 Buffer 组合使用，可进行高扩增效率、高灵敏度检测。

● 操作注意事项

以下是本制品的使用注意事项。使用前请务必认真阅读。

- 使用前轻轻颠倒混合，避免产生气泡。将试剂混匀后再使用。
如果试剂没有混匀，就不能获得很好的反应性能。避免振荡混合。
- 请在冰上配制反应液。
- 反应液的配制、分装请一定使用新的一次性枪头，尽量防止样品间污染。

● 操作方法

<Thermal Cycler Dice Real Time System系列的操作方法>

- 按下列组份在冰上配制PCR反应液。不需要使用ROX Reference Dye。

< 1 反应体系 >

试剂	使用量	终浓度
CycleavePCR Reaction Mixture (2 × conc.)	12.5 μl	1 ×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.5 μl	0.2 μM
Cycling Probe (5 μM)	1 μl	0.2 μM ^{*1}
模板 (<100 ng)	1 μl	*2
灭菌水	9.5 μl	
Total	25 μl	

*1: Cycling Probe的使用量一般为0.2 μM。请根据荧光信号强度调整使用量。

使用Thermal Cycler Dice Real Time System时，在Result/Analysis Data选择Amplification Plots, Fluorescence选择Raw时的背景值（基线的荧光信号强度）在10,000以下,将Cycling探针浓度调整至最终荧光信号强度在基线的5,000~30,000后再使用。

*2: 模板添加量可超过1 μl。请根据模板添加量调整灭菌水的添加量。

另外，以反转录反应获得的cDNA（RT反应液）作为模板时，其添加量不要超过PCR反应液总体积的1/10。

- 将反应管轻轻离心后，放入Real Time PCR仪，开始反应。

PCR反应建议按照3步PCR法的标准操作流程进行反应。

首先，尝试使用下面的PCR条件进行反应。必要时可优化PCR反应条件，请参考[实验条件的选择方法]。

3 Step PCR标准操作流程

预变性 (Hold)

Cycle: 1

95°C 10~30 sec

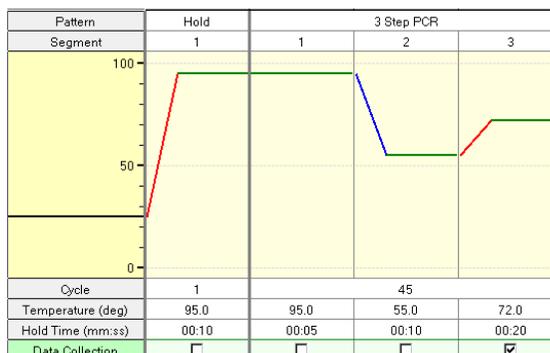
3 Step PCR

Cycle: 45

95°C 5 sec

55°C 10 sec

72°C 20 sec



◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq* HS 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶, 与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比, 不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长, 会使酶的活性下降, 其 PCR 的扩增效率、定量准确度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性, 通常设定为 95°C、30 秒。

3. 反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线。
分析方法请参考 Thermal Cycler Dice Real Time System / 的使用说明书。

<Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System及StepOnePlus Real-Time PCR System的操作方法 >

注: 各PCR仪请按照各自的说明书进行操作。

1. 按下列组份在冰上配制PCR反应液。

试剂	使用量	终浓度
CycleavePCR Reaction Mixture (2× conc.)	10 μl	1 ×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Cycling Probe (5 μM)	0.8 μl	0.2 μM ^{*1}
ROX Reference Dye (50× conc.) 或 Dye II (50× conc.) ^{*2}	0.4 μl	1 ×
模板 (<100 ng)	1.0 μl	^{*3}
灭菌水	7.0 μl	
Total	20 μl	

*1: Cycling Probe的使用量一般为0.2 μM。请根据荧光信号强度调整使用量。

*2: ROX Reference Dye II (50×) 的浓度比ROX Reference Dye (50×) 低。使用StepOnePlus 进行分析时请使用ROX Reference Dye (50×), 使用7500 Real-Time PCR System及7500 Fast Real-Time PCR System进行分析时请使用ROX Reference Dye II (50×)。

注: 使用ROX标记探针时, 不添加ROX Reference Dye。

*3: 模板添加量可超过1 μl。请根据模板添加量调整灭菌水的添加量。另外, 以反转录反应获得的cDNA (RT反应液) 作为模板时, 其添加量不要超过PCR反应液总体积的1/10。

2. 将反应管用离心机轻微离心后, 放入Real Time PCR仪中, 开始反应。

在Experiment Properties选择Quantification-Standard后, 再选择TaqMan Reagents或Others (选择Others时, 不选择Include Melt Curve)。在Plate Set Up界面的Define Target中设定 Reporter及Quencher的荧光标记物质。在Plate Layout界面的Passive Reference选择ROX。

注: 使用ROX标记探针时, 不添加ROX Reference Dye, 请将Passive Reference设定为none。

淬灭物质为Eclipse标记时, 请将Quencher设定为none。

PCR反应建议按照3步PCR法的标准操作流程进行反应。

首先, 尝试使用下面的PCR条件进行反应。必要时可优化PCR反应条件, 请参考[实验条件的选择方法]

3 Step PCR标准操作流程

预变性 (Hold)

Cycle: 1

95°C 10~30 sec

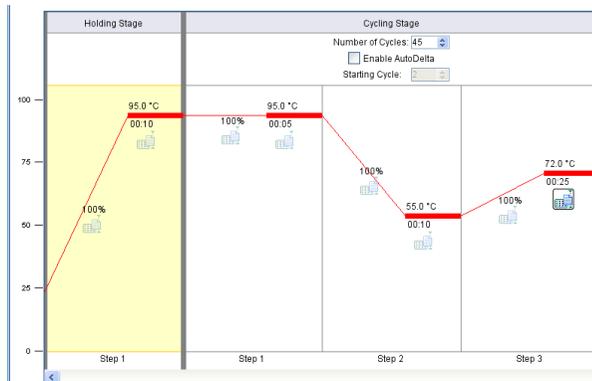
3 Step PCR

Cycle: 45

95°C 5 sec

55°C 10 sec

72°C 20~25 sec *



* : 使用StepOnePlus时设定为20 sec、使用7500 Fast时设定为25 sec。

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq HS* 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶，与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比，不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长，会使酶的活性下降，其 PCR 的扩增效率、定量准确度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性，通常设定为 95°C、30 秒。

- 反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线，进行 PCR 定量时制作标准曲线。
分析方法请参考 Real Time PCR 仪的使用说明书。

<Smart Cycler II System 的操作方法>

- 按下列组份在冰上配制 PCR 反应液。不需要使用 ROX Reference Dye。

试剂	使用量	终浓度
Cycleave PCR Reaction Mixture (2xconc.)	12.5 μ l	1 \times
PCR Forward Primer (10 μ M)	0.5 μ l	0.2 μ M
PCR Reverse Primer (10 μ M)	0.5 μ l	0.2 μ M
Cycling Probe (5 μ M)	1 μ l	0.2 μ M ^{*1}
模板 (<100 ng)	1 μ l	^{*2}
灭菌水	9.5 μ l	
Total	25 μ l	

*1: Cycling Probe 的使用量一般为 0.2 μ M。请根据荧光信号强度调整使用量。

使用 Smart Cycler 时，将 Cycling 探针浓度调整至最终荧光信号强度至 300~500 后再使用。

*2: 模板添加量可超过 1 μ l。请根据模板添加量调整灭菌水的添加量。另外，以反转录反应获得的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时，其添加量不要超过在 PCR 反应液总体积的 1/10。

- 将反应管用 Smart Cycler 专用离心机轻微离心后，放入 Smart Cycler 仪器中，开始反应。

PCR 反应建议按照 3 步 PCR 法的标准操作流程进行反应。

首先，尝试使用下面的 PCR 条件进行反应。必要时可优化 PCR 反应条件，请参考 [实验条件的选择方法]。

3 Step PCR标准操作流程

预变性 (Hold)

Cycle: 1

95°C 10~30 sec

3 Step PCR

Cycle: 45

95°C 5 sec

55°C 10 sec

72°C 10~15 sec

Stage 1			Stage 2			
Hold			Repeat 45 times.			
Temp	Secs	Optics	3-Temperature Cycle			
95.0	10	Off	Deg/Sec	Temp	Secs	Optics
			NA	95.0	5	Off
			NA	55.0	10	Off
			NA	72.0	10	On

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq HS* 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶，与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比，不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长，会使酶的活性下降，其 PCR 的扩增效率、定量准确度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性，通常设定为 95°C、30 秒。

3. 反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线，进行 PCR 定量时制作标准曲线。
分析方法请参考各仪器的使用说明书。

<LightCycler的操作方法>

注：请按照 LightCycler (Roche Diagnostics) 的说明书进行操作。

1. 按下列组份在冰上配制 PCR 反应液。不需要使用 ROX Reference Dye.

< 1 反应体系 >

试剂	使用量	终浓度
Cycleave PCR Reaction Mixture (2× conc.)	10.0 μl	1×
PCR Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Cycling Probe (5 μM)	0.8 μl	0.2 μM ^{*1}
模板 (<100 ng)	1.0 μl	^{*2}
灭菌水	7.4 μl	
Total	20 μl	

*1: Cycling Probe 的使用量一般为 0.2 μM。请根据荧光信号强度调整使用量。

*2: 模板添加量可超过 1 μl。请根据模板添加量调整灭菌水的添加量。另外，以反转录反应获得的 cDNA (RT 反应液) 作为模板时，其添加量不要超过 PCR 反应液总体积的 1/10。

2. 将反应管用离心机轻微离心后，放入 LightCycler 中，开始反应。

PCR 反应建议按照 3 步 PCR 法的标准操作流程进行反应。

首先，尝试使用下面的 PCR 条件进行反应。必要时可优化 PCR 反应条件，请参考 [实验条件的选择方法]。

3 Step PCR标准操作流程

预变性 (Hold)

Cycle: 1

95°C 10~30 sec

3 Step PCR

Cycle: 45

95°C 5 sec

55°C 10 sec

72°C 10~15 sec

◆特别提示:

本制品中使用的 *TaKaRa Ex Taq* HS 是利用抗 *Taq* 抗体的 Hot Start 用 DNA 聚合酶, 与其他公司的化学修饰型 Hot Start 用 DNA 聚合酶相比, 不需要 PCR 反应前的 95°C、5~15 分钟的酶的活性化反应。如果高温处理时间过长, 会使酶的活性下降, 其 PCR 的扩增效率、定量准确度等都会受到影响。如果在 PCR 反应前进行模板的预变性, 通常设定为 95°C、30 秒。

3. 反应结束后确认 Real Time PCR 的扩增曲线, 进行 PCR 定量时制作标准曲线。

分析方法请参考 LightCycler 的使用说明书。

实验条件的选择方法

在推荐的 PCR 反应条件 (3 Step PCR 标准操作流程) 下, 不能获得良好的反应性能时, 请按照以下要领对引物浓度或 PCR 反应条件进行研讨。

预变性: 95°C 10~30秒

预变性通常为 95°C、10~30 秒, 环状质粒及基因组 DNA 等难以变性的模板在此条件下大多数都可以进行良好的扩增反应。有时因模板状态不同, 变性时间可延长至 95°C、1~2 分钟, 但时间过长会使酶活性下降, 因此不推荐使用 2 分钟以上的变性条件。

3 Step PCR:

变性: 95°C、5秒

进行 Real Time PCR 反应的基因片段大小一般在 300 bp 以下时, 变性条件为 95°C、3~10 秒即可。

引物退火: 55°C~62°C、10~20秒

不能进行特异性检出时, 优化退火温度可得到改善。延长退火时间有时也能提高扩增效率。

延伸时间: 72°C、~30秒

扩增片段大小为 300 bp 时, 30 秒即可。

* 使用 Smart Cycler 时, 15 秒即可。

* 使用 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System 时, 请将延伸时间设定为 34 秒。

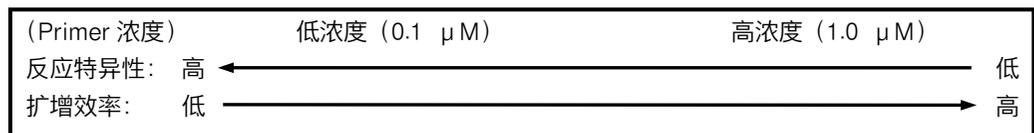
循环圈数: 30~50 cycles

选择实验条件时, 要同时对反应特异性和扩增效率进行综合判断。这样, 在宽广的浓度范围内进行准确定量。

- 扩增效率高的实验体系
 - 扩增产物检出时循环圈数过早 (Ct 值小)。
 - PCR 扩增效率高 (理论值接近 100%)。

[引物浓度的研讨]

引物浓度、反应特异性和扩增效率之间的关系如下图所示。降低 Primer 浓度有助于提高特异性; 提高 Primer 浓度有助于提高扩增效率。



[PCR 反应条件的研讨]

- 要提高反应特异性
 - 提高退火温度可以改善反应特异性。同时要考虑扩增效率进行研讨。
- 要提高扩增效率
 - 延长延伸时间可以改善扩增效率。

● 实验例

使用Positive Control确认CycleavePCR的反应例（使用Thermal Cycler Dice Real Time System）可以使用CycleavePCR Starter Kit中附带的Positive Control进行实验操作的确认。

- 按下列组份在冰上配制PCR反应液。

< 1 反应体系 >

试剂	使用量	终浓度
CycleavePCR Reaction Mixture (2× conc.)	12.5 μl	1×
Positive Control Primer Mix (10 μM each)	1 μl	0.2 μM
Positive Control Probe (FAM/TAMRA)(25× conc.)	1 μl	1×
Positive Control	1 μl	
灭菌水	9.5 μl	
Total	25 μl	

- PCR反应条件如下图所示。

Pattern	Hold	3 Step PCR		
Segment	1	1	2	3
	100	100	50	75
	50			
	0			
Cycle	1	45		
Temperature (deg)	95.0	95.0	55.0	72.0
Hold Time (mm:ss)	00:10	00:05	00:10	00:20
Data Collection	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Hold (预变性)

Cycle: 1

95°C 10 sec

3 Step PCR

Cycle: 45

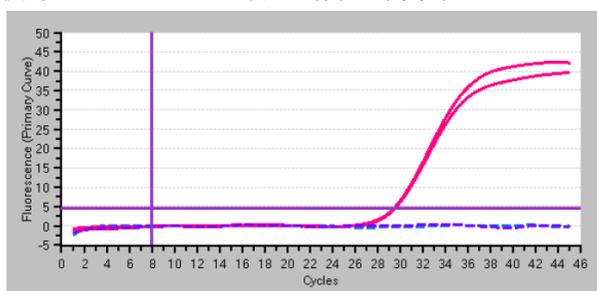
95°C 5 sec

55°C 10 sec

72°C 20 sec

- Positive Control反应结果

使用Positive Control的反应结果如下图所示。



— : PC

- - - : NC

● 附 录

RT-PCR反应

进行RT-PCR反应时，建议使用PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) (Code No. RR036A)，与本制品配套使用可获得可信赖的反应结果。

PrimeScript RT Master Mix (Perfect Real Time) 中含有Oligo dT Primer和Random 6 mers两种引物，可对全长mRNA有效合成cDNA。

另外，单独使用一种引物或Gene Specific Primer时，建议使用PrimeScript RT Reagent Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR037A)。

1. 按下列组份在冰上配制反转录反应液。

将除RNA样品以外的组份配制成所需管数 + α，分装于microtube中后再添加RNA样品。

<1反应体系>使用RR036A时

试剂	使用量	终浓度
5×PrimeScript RT Master Mix (for Real Time)	2 μl	1×
Total RNA		
RNase Free dH ₂ O	Up to 10 μl	

<1反应体系>使用RR037A时

试剂	使用量	终浓度
5×PrimeScript Buffer (for Real Time)	2 μl	1×
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 μl	
Oligo dT Primer (50 μM)* ¹	0.5 μl	25 pmol
Total RNA		
RNase Free dH ₂ O	Up to 10 μl	

*1: 单独使用Random Primer或Gene Specific Primer时，使用浓度如下：

	使用量	添加量
Random 6mers (100 μM)	0.5 μl	50 pmol
Gene Specific Primer (2 μM)	0.5 μl	1 pmol

注：反转录反应时，必要时请扩大反应体积。总体积为10 μl的反转录反应液可对最高至500 ng的total RNA进行反转录反应。

2. 反转录反应。

37°C、15 min *² (反转录反应)

85°C、5 sec (使反转录酶失活)

4°C

* 2: 使用Gene Specific Primer时，反转录反应为42°C、15 min。

PCR反应中有非特异性扩增时，将反转录温度变更为50°C可有所改善。

3. 在PCR反应液中添加上述RT反应液 (cDNA)。

RT反应液 (cDNA) 的添加量不要超过PCR反应液总体积的10%。

● 关联产品

Thermal Cycler Dice™ Real Time System III (Code No. TP950/TP970/TP980/TP990)
Thermal Cycler Dice™ Real Time System *Lite* (Code No. TP700/TP760)
Cycleave human ALDH2 Typing Probe/Primer Set Ver.2 (Code No. CY403)
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) (Code No. RR036Q/A/B)
PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR037Q/A/B)

● 参考文献

使用Cycling探针进行SNP检测的实验例

- 1) Esaki H, Noda K, Otsuki N, Kojima A, and Asai T. *J Microbiol Methods* . (2004) **58**(1): 131–134.
- 2) Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, and Yoshida K. *Clin Cancer Res* . (2006) **12**: 5764–5769.
- 3) Yatabe Y, Hida T, Horio Y, and Kosaka T. *J Mol Diagn*. (2006) **8**: 335–341.
- 4) Suzuki Y, Saito R, Zaraket H, and Daoat C. *J Clin Microbiol*. (2010) **48**: 57–63.

TaKaRa Ex Taq is a registered trademark of Takara Bio Inc.

CycleavePCR, PrimeScript, Thermal Cycler Dice are trademarks of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202009Da