



SuperFast Probe Mixture

目录号： CW2999S (1 ml)
CW2999M (5 ml)

保存条件： -20℃，如需频繁使用，可存放于2-8℃，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW2999S 1 ml	CW2999M 5 ml
2×SuperFast Probe Mixture	1 ml	5×1 ml
ddH ₂ O	1 ml	5×1 ml

产品简介

SuperFast Probe Mixture是专用于探针法(TaqMan, Molecular Beacon等)进行实时荧光定量PCR的预混体系,浓度为2×,包含特异性Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺以及增强剂和稳定剂,操作简单方便。主要用于基因组DNA靶序列和RNA反转录后的cDNA靶序列检测。本品含有的特异性Taq DNA Polymerase能有效减少在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增,酶的激活仅需在95℃孵育30 s,大大缩短了PCR的反应时间。独特的PCR缓冲体系与热启动酶的组合,有效抑制了非特异产物的产生,能够显著提高PCR的扩增效率,荧光信号更强,灵敏度更高,线性范围更宽。

注意事项

1. 使用前请上下颠倒轻轻混匀,尽量避免起泡,并经短暂离心后使用。
2. 避免反复冻融本品,反复冻融可能使产品性能下降。本产品长期保存可置于-20℃避光保存。如果在短期内需要频繁使用,可在2-8℃保存。
3. ROX染料用于校正定量PCR仪孔与孔之间产生的荧光信号误差,本品中不含ROX染料,如所使用仪器需匹配ROX染料联系当地业务或致电康为世纪客服电话4006-222-360。

使用方法

以下举例为常规PCR反应体系和反应条件,实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ l体系	25 μ l体系	20 μ l体系	终浓度
2 \times SuperFast Probe Mixture	25 μ l	12.5 μ l	10 μ l	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	1 μ l	0.5 μ l	0.4 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	1 μ l	0.5 μ l	0.4 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Probe ²⁾	1 μ l	0.5 μ l	0.4 μ l	0.2 μ M
Template DNA ³⁾	X μ l	X μ l	X μ l	
ddH ₂ O	up to 50 μ l	up to 25 μ l	up to 20 μ l	

注意：1) 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果，可以在0.1–1.0 μ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

2) 所用探针的终浓度，与使用的荧光定量PCR仪、探针种类、荧光标记物质种类有关，实际使用时请参照仪器说明书，或各荧光探针的具体使用要求进行浓度的调节。

3) 通常DNA模板的量以10–100 ng基因组DNA或1–10 ng cDNA为参照，因不同物种的模板中含有的目的基因拷贝数不同，可对模板进行梯度稀释，以确定最佳的模板使用量。

2. PCR反应条件

步骤	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	30 s
变性	95 $^{\circ}$ C	10 s
退火/延伸	58 $^{\circ}$ C	20 s

} 40-45个循环

注意：1) 本产品所采用的酶在预变性95 $^{\circ}$ C、30 s条件下实现酶的活化。在此条件下，大多数模板可良好的进行解链。对GC含量高、二级结构复杂的模板，可将预变性时间延长至1分钟，以起始模板充分解链，若高温处理时间过长，会对酶的活性造成影响；对于简单模板也可采用预变性20 s，可根据模板情况确定最佳的预变性时间。

2) 建议采用两步法PCR反应程序，退火温度请以58–64 $^{\circ}$ C作为设定范围的参考，发生非特异性反应时，可提高退火温度。若因使用T_m值较低的引物等原因，得不到良好的实验结果时，可尝试进行三步法PCR扩增，退火温度请以56 $^{\circ}$ C–64 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考。

3) 几种常见仪器的退火延伸时间设定见下表：

使用Roche, BioRad, Agilent和宏时、东胜龙等公司荧光定量PCR仪时请设定在20 s。

使用ABI 7000/7300/7500时请设定在30 s。

退火/延伸时间可根据使用不同型号仪器和不同模板进行设定，请按照仪器使用说明书要求进行实验操作。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途