



2×RealStar Power Probe Mix

2×RealStar Power 探针法 qPCR 预混液

版本号: V230901

货号: A361
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
A361-01	1.1 ml
A361-05	1.1 ml×5
A361-10	1.1 ml×10

【产品概述】

本产品是专用于探针法 (TaqMan, Molecular Beacon等) 实时荧光定量的预混体系。产品含有优化浓度的GenStar Power HSTaq DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。Power HSTaq DNA Polymerase在75°C以下没有活性,从而有效避免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,酶的激活需要**95°C孵育 10 min**。反应体系可在室温下配制,无需在冰上完成,操作方便。主要用于基因组DNA靶序列和RNA反转录后cDNA靶序列的检测,如基因表达分析,拷贝数分析,SNP基因型分析等,适用于不同类型探针法荧光定量PCR。

本产品为2×探针法预混实时荧光定量PCR反应体系,使用时只需加入模板、引物、探针、ROX Reference Dye (根据不同荧光定量PCR仪选择使用) 和水,使其工作浓度为1×,即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点,可最大限度地减少人为误差、节约PCR实验操作时间、降低污染机率。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A361-01	A361-05	A361-10
ZA361-101	2×RealStar Power Probe Mix	1.1 ml	1.1 ml×5	1.1 ml×10
ZA320-101	High ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl
ZA321-101	Low ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl

注: 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:

需加 High ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。

需加 Low ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7500 /7500 Fast, MJ Research Chromo4,Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

【保存条件】

-20°C保存,避光,保质期 24 个月,避免反复冻融。如果经常使用,可置于 4°C保存至少 3 个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂: cDNA 或 DNA 模板、引物、探针。

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。

操作示例: 分别以20 µl和50 µl PCR反应体系为例



1. PCR 反应体系的建立:

试剂	20 μ l PCR反应体系使用量	50 μ l PCR反应体系使用量
DNA模板 ^a	0.4 μ l	1 μ l
正向引物 (10 μ M) ^b	0.5 μ l	1 μ l
反向引物 (10 μ M) ^b	0.5 μ l	1 μ l
探针 ^c	0.5 μ l	1 μ l
2 \times RealStar Power Probe Mix	10 μ l	25 μ l
High/Low ROX Reference Dye ^d	0.4 μ l	1 μ l
Sterile Water	补足至20 μ l	补足至50 μ l

^a模板量: 10-100 ng基因组DNA, 或1-10 ng cDNA, 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。

^b引物: 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果, 可以终浓度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。为了获得理想的qPCR的效果, 扩增片段的长度建议为80-200 bp。

^c使用的探针浓度, 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。

^d不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同, 或需要添加或不需要添加, 请根据仪器说明进行操作。

2. PCR 反应条件的设置:

建议采用两步法 PCR 反应程序, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 再进行 PCR 条件的优化。由于使用 Tm 值较低的引物或扩增片段较长等原因, 两步法 PCR 反应扩增性能较差时, 可以尝试进行三步法 PCR 扩增反应。

a) 两步法反应程序

流程	温度	时间	循环数
预变性	95°C	10 min	
变性	95°C	15 s	35-45
退火-延伸	60°C	30 s	

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。

b) 三步法反应程序

流程	温度	时间	循环数
预变性	95°C	10 min	
变性	95°C	15 s	35-45
退火	55-65°C	15-30 s	
延伸	72°C	30 s	

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。

3. 在相应的 real time PCR 仪器上完成实验, 并分析结果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。