

GoldStar Probe Mixture

项目号: G665832 (5 mL)

保存条件: -20°C, 如需频繁使用, 可存放于 2-8°C, 尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	G665832 5 ml
2×GoldStar Probe Mixture	5×1 ml
50×Low ROX	/
50×High ROX	/
ddH ₂ O	5×1 ml

产品简介

GoldStar Probe Mixture 是专用于探针法 (TaqMan, Molecular Beacon 等) 实时 荧光定量 PCR 的预混体系, 浓度为 2×, 包含 GoldStar Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs 和 Mg²⁺, 操作简单方便。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后 cDNA 靶序列检测, 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。本品含有的 GoldStar Taq DNA Polymerase 是一种经化学修饰的、全新高效热启动酶, 在常温下没有聚合酶活性, 有效避免了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, 酶的激活须在 95°C 下孵育 10 分钟。独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合, 显著提高了 PCR 的扩增效率, 荧光信号 更强, 灵敏度更高, 可以检测单拷贝的模板。使用本产品可以得到更广的线性范围, 对目的基因定量更准确。适用于无需 ROX 作为校正染料的所有荧光定量 PCR 仪。

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, 一般用于 ABI、Stratagene 等公司的 Real Time PCR 扩增仪。不同仪器的激发光学系统有所不同, 因此 ROX 染料的浓度必须与相应的荧光定量 PCR 仪相匹配。

不需要 ROX 校正的仪器 (CW0932): Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 96, Bio-rad iCycler iQ, iQ5, CFX96 等。

需要 Low ROX 校正的仪器 (CW2625)：ABI Prism7500/7500 Fast, QuantStudio® 3 System, QuantStudio® 5 System, QuantStudio® 6 Flex System, QuantStudio® 7 Flex System, ViiA 7 system, Stratagene Mx3000/Mx3005P, Corbett Rotor Gene 3000 等。

需要 High ROX 校正的仪器 (CW2626)：ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等。

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。如果在短期内需要频繁使用，可在 2-8℃ 保存。

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 反应体系	终浓度
2×GoldStar Probe Mixture	25 μ l	1 ×
Forward Primer, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Probe, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ²⁾
Template DNA	2 μ l ³⁾	/
50×Low ROX or High ROX (optional) ⁴⁾	1 μ l	1 ×
ddH ₂ O	up to 50 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。
- 2) 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。
- 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。

4) 不同仪器的激发光学系统有所不同，根据使用荧光定量的仪器选择加入 50× Low ROX or 50×High ROX。

2. PCR 反应程序

注意！本产品预变性反应必须在 95℃ 10 分钟下完成！

两步法 PCR:

步骤	温度	时间	/
预变性	95℃	10 min ¹⁾	/
变性	95℃	15 s	35-40 个循环
退火/延伸 ²⁾	60℃	1 min	35-40 个循环

注意:

- 1) 本产品所采用的热启动酶须在预变性 95℃、10 min 条件下实现酶的活化。
- 2) 建议采用两步法 PCR 反应程序，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℃-64℃的范围作为设定参考。