

HyperProbe Mixture

目录号: H666048 (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 | 5 ml |
| 2×HyperProbe Mixture | 5×1 ml |
| ddH ₂ O | 5×1 ml |

产品简介

HyperProbe 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×, 包含新型工程 DNA 酶、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。

本品含有高灵敏度工程 DNA 酶, 能在有效减少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的同时, 大幅提升检测灵敏度和扩增效率, 酶的激活仅需在 95°C 孵育 30 s, 大大缩短了 PCR 的反应时间。优化的 PCR 缓冲体系与混合酶的组合, 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。

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°C 避光保存。如果在短期内需要频繁使用, 可在 2-8°C 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, 请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。

PCR 反应体系

上海阿拉丁生化科技股份有限公司

电话: 400-620-6333

| 试剂 | 50 μ l 体系 | 25 μ l 体系 | 20 μ l 体系 | 终浓度 |
|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------|
| 2 \times HyperProbe 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 M1) |
| Reverse Primer, 10 μ M | 1 μ l | 0.5 μ l | 0.4 μ l | 0.2 μ M1) |
| Probe2) | | | | |
| Template DNA3) | 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。

PCR 反应条件

| 步骤 | 温度 | 时间 | |
|-------|-----------------|--------|------------|
| 预变性 | 95 $^{\circ}$ C | 30s1) | |
| 变性 | 95 $^{\circ}$ C | 10 s | 40-45 个循环数 |
| 退火/延伸 | 58 $^{\circ}$ C | 20 s2) | 40-45 个循环数 |

- 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，以使起始模板充分解链，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。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。