

FastStar Probe Kit (for bisDNA)

目录号:

F666101 (500 U)

F666101 (5000 U)

保存条件: $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$, 尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	500 U
FastStar Probe Buffer (for bisDNA)	2×1.2 mL
SuperFastStar DNA Polymerase (5U/ μL)	100 μL

产品简介

本产品主要应用于以亚硫酸氢盐处理的 DNA 为模板的探针法荧光定量 PCR。其中 SuperFastStar DNA Polymerase 是一种经双单克隆抗体修饰的、全新高效热启动酶,在常温下酶的活性被完全封闭,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,搭配优化的 FastStar Probe Buffer (for bisDNA) 包含 PCR Buffer、dNTPs 和 Mg^{2+} 等,只需客户加入模板,引物,探针即可,使用方便。

注意事项

- 1 使用前请在本品完全融化后上下颠倒轻轻混匀,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。本品可置于 -20°C 长期保存,避光。如果在短期内需要频繁使用,可在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 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	25 μ L 体系	50 μ L 体系	终浓度
FastStar Probe Buffer (for bisDNA)	14 μ L	28 μ L	1×
Forward Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M1)
Reverse Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M1)
Probe, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M2)
SuperFastStar DNA Polymerase	0.6 μ L	1.2 μ L	
Template DNA	X μ L	X μ L	
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	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。

2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	30 s	1
变性	95°C	15s	40-45
延伸/终延伸	60°C	30 s	40-45

注意：1) 本产品 **95°C** 初始变性 **30s** 足以使酶激活；复杂模板可延长至 **3min** 变性。

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°C-64°C** 的范围作为设定参考。