

2xRealStar Probe Fast Mixture with ROX II

2x探针法预混实时荧光定量快速 PCR 反应体系(含 ROX II)

【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 HotStart Taq DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。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。HotStart Taq DNA Polymerase高温加热前，抗Taq单克隆抗体与Taq酶结合，抑制Taq酶的聚合酶活性，从而抑制在低温条件下出现的由引物和模板DNA非特异性杂交或引物二聚体引起的非特异性扩增。抗Taq单克隆抗体在PCR反应第一循环的变性步骤中已完全失活，不会阻碍之后的Taq Polymerase反应，大大提高了PCR反应的灵敏度及特异性。

本产品为2×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、降低污染几率。

【产品规格及组分】

产品名称	货号	规格
2xRealStar Probe Fast Mixture	A351-01	1.1 ml
	A351-05	1.1 ml x 5
	A351-10	1.1 ml x 10
2xRealStar Probe Fast Mixture with ROX	A353-01	1.1 ml
	A353-05	1.1 ml x 5
	A353-10	1.1 ml x 10
2xRealStar Probe Fast Mixture with ROX II	A354-01	1.1 ml
	A354-05	1.1 ml x 5
	A354-10	1.1 ml x 10

*注：不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同，如需添加，需致电单独配带：

ROX Reference Dye (50×):ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus 荧光定量 PCR 仪。

ROX Reference Dye II (50×):ABI Prism7500 /7500 Fast 荧光定量 PCR 仪，MJ Research Chromo4,Opticon (II)，Corbett Rotor Gene 3000，Agilent Technologies Mx3000P 荧光定量 PCR 仪。

不加 ROX Reference Dye: Thermal Cycler Dice Real Time System，LightCycler，Smart Cycler System，Corbett Rotor-gene 6000 荧光定量 PCR 仪等。

【注意事项】

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。

【保存条件】

-20℃恒温避光保存一年，避免反复冻融。如果经常使用，可置于4℃保存至少三个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂：cDNA 或 DNA 模板、引物、探针。

操作示例：以50 μl PCR反应体系为例

1. PCR 反应体系的建立:

DNA 模板*	1 μ l
正向引物 (10 μ M) *	1 μ l
反向引物 (10 μ M) *	1 μ l
探针*	1 μ l
2xRealStar Probe Mixture	25 μ l
RNase-free H ₂ O	21 μ l

2. PCR 反应条件的设置:

94 $^{\circ}$ C	2 min	} 35-45 循环
94 $^{\circ}$ C	15 sec	
55~65 $^{\circ}$ C	15 sec	
72 $^{\circ}$ C	35 sec	

* 模板量: 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。

* 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80~250 bp。

* 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。

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。

【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。