



SuperFastStar Probe Mixture

目录号：CW3347S (1 mL)

CW3347M (5 mL)

保存条件：-20±5℃。

产品内容

Component	CW3347S 1 mL	CW3347M 5 mL
2×SuperFastStar Probe Mixture	1 mL	5 mL
ddH ₂ O	1 mL	5 mL

产品简介

SuperFastStar Probe Mixture 是专用于探针法(TaqMan, Molecular Beacon等)实时荧光定量PCR的预混液。核心组分 SuperFastStar DNA Polymerase 是双重抗体修饰的热启动DNA聚合酶, 95℃加热5秒即可恢复DNA聚合酶活性, 具有特异性强、检测灵敏度高等诸多优点, 配以针对qPCR优化的最适buffer, 反应液浓度为2×。本产品独特的qPCR缓冲体系与热启动酶组合, 有效抑制了非特异产物的产生, 显著提高了qPCR的扩增效率, 非常适合于进行高特异性、高灵敏度、单重和多重扩增等的qPCR反应。只需客户加入模板, 引物, 探针即可, 使用方便。

实验前准备以及注意事项

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. 本产品建议小份分装使用, 如果在短期内需要频繁使用, 可于2-8℃保存6个月。
3. 避免反复冻融本品, 反复冻融(冻融次数≤20次)可能使产品性能下降。
4. 本品可置于-20±5℃避光长期保存。
5. 本产品配置反应体系时, 最好在超净台或无菌环境中进行。

使用方法

以下举例为常规qPCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据具体用途、模板、引物结构、目的片段大小和扩增效果不同进行相应的改进和优化。

1. qPCR反应体系

试剂	25 μ L体系	50 μ L体系	终浓度
2 \times SuperFastStar Probe Mixture	12.5 μ L	25 μ L	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M ¹⁾
Probe, 10 μ M	0.25 μ L	0.5 μ L	0.1 μ M ²⁾
Template DNA ³⁾	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反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	5-60 s ¹⁾	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5-15 s	} 40-45
退火/延伸	60 $^{\circ}$ C	30 s ²⁾	

注意:

- 1) 本产品95 $^{\circ}$ C初始变性30 s足以使酶激活；复杂模板可延长至3 min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 $^{\circ}$ C-64 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考。