



2×taqman PCRMix (Probe qPCR)

货号: SR2110

规格: 50T (1.25ml) /200T (5ml)

保存: -20℃保存。解冻后使用前应混匀, 避免产生大量气泡。

产品说明:

2×taqman PCRMix (Probe qPCR) 是采用探针法进行 Real Time PCR 的专用试剂。含有常温下完全封闭 Taq 酶活性的化学修饰法热启动 HS Taq DNA Polymerase, 能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物二聚体引起的非特异性扩增, 提高扩增反应的特异性。本试剂经过特殊配制, 采用优化配方的 qPCR 专用 Buffer, 大大提高了 qPCR 反应的扩增效率和检测灵敏度, 可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线, 准确进行定量。本试剂与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容, 如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。

试剂原理:

2×taqman PCRMix (Probe qPCR) 利用我公司生产的化学修饰热启动酶 HS Taq DNA polymerase 进行 qPCR 扩增反应, 常温下完全封闭了 Taq 酶活性, 因此, 可以在室温条件进行反应体系配制, 通过使用 taqman probe 对 PCR 扩增荧光信号强度进行检测。

试剂组成:

1、2×taqman PCRMix (Probe qPCR)

2、ROX Reference Dye I (50×)

3、ROX Reference Dye II (100×)

ROX Reference Dye 用以校正部分公司 Real Time PCR 扩增仪的孔间荧光信号误差。

ROX Reference Dye I (50×) 适用于:

ABI PRISM 7000/7700/7300/7900HT、StepOnePlus Real-Time PCR System。

ROX Reference Dye II (100×) 适用于:

7500 Real-Time PCR System、7500 Fast Real-Time PCR System、Stratagene Mx3000P、Mx3005P、Mx4000。

ROX Reference Dye I、II 的反应终浓度均为 1×。

LightCycler、Thermal Cycler Dice Real Time System II、Smart Cycler System 等 Real Time PCR 扩增仪不需使用。

反应条件:

1、两步法

热启动: 95℃ 3 分钟;

变性: 95℃ 10~20 秒;

退火/延伸: 60℃ 20~60 秒。

} 35~45 个循环

2、三步法

热启动：95℃ 3 分钟；

变性：95℃ 10~20 秒；
退火：56-64℃ 10~30 秒；
延伸：72℃ 10~60 秒。 } 35~45 个循环

对于 Roche LightCycler480，热启动时间应采用 10min，ABI7500 也可以采用 5min 热启动。

qPCR反应体系配制：

试剂	25μl 体系	50μl 体系	终浓度
2×taqman PCRmix	12.5μl	25μl	1×
Primer 1 (10μM)	0.5-2.5μl	1-5μl	0.2~1.0μM
Primer 2 (10μM)	0.5-2.5μl	1-5μl	0.2~1.0μM
TaqMan Probe	1μl	2μl	-
ROX Reference Dye I or ROX Reference Dye II	0.5μl or 0.25μl	1μl or 0.5μl	1×
Template DNA	5μl	10μl	-
ddH ₂ O	-	-	-
Total volume	25μl	50μl	

- 1、通常引物终浓度为 0.2μM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可以在 0.2~1.0μM 范围内调整引物浓度。
- 2、使用的探针浓度可在 0.1-0.3μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验，寻找引物和探针的最佳组合。探针的使用与 Real Time PCR 扩增仪、探针种类、荧光标记物质种类有关，请参照仪器说明书或各荧光探针的具体使用要求进行。
- 3、不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的 DNA 模板添加量。

质量控制：

- 1、功能检测：qPCR 的敏感性、特异性、可重复性。
- 2、无外源核糖核酸酶活性、内切酶活性，无外切脱氧核糖核酸酶污染。

技术说明：

- 1、2×taqman PCRmix 经过特殊配制，采用化学修饰热启动酶，具有更高特异性；
- 2、对于退火温度较低的引物或超过 200bp 长片段扩增建议采用三步法；
- 3、扩增前后要使用专用的区域和移液器，戴手套操作并经常更换，PCR 反应完成后切勿打开反应管。以最大限度的减少 PCR 产物对样品的污染。