



SuperFastStar Probe Mixture

Cat. No. CW3347

产品简介

SuperFastStar Probe Mixture 是用于探针法(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°C 5秒即可恢复DNA聚合酶活性, 配以经过优化的最适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, 有效抑制非特异产物的产生, 显著提高了qPCR的扩增效率及检测灵敏度, 适合于进行高灵敏度、单重和多重扩增等qPCR反应。只需加入模板, 引物, 探针即可, 使用简单。

保存条件: -20±5°C

运输条件: 2~8°C

产品内容

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

使用说明

以常规qPCR反应体系和反应条件举例，实际操作中应根据具体用途、模板、引物结构、目的片段大小等进行相应的调整和优化。

1. PCR反应体系

试剂	25μL体系	50μL体系	终浓度
2×SuperFastStar Probe Mixture	12.5μL	25μL	1 ×
Forward Primer, 10μM	0.5μL	1μL	0.2μM ¹⁾
Reverse Primer, 10μM	0.5μL	1μL	0.2μM ¹⁾
Probe	0.25μL	0.5μL	0.1μM ²⁾
Template DNA ³⁾	XμL	XμL	<1μg(total DNA)
ddH ₂ O	Up to 25μL	Up to 50μL	

注意:

- 1) 通常引物浓度以0.2μM可以得到较好结果，可以在0.1-1.0μM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10-100ng基因组DNA或1-10ng 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	循环数
预变性	95℃	5-60s ¹⁾	1
变性	95℃	5-15s	} 40-45cycles
退火/延伸	60℃	30s ²⁾	

注意:

- 1) 本产品95℃预变性30s足以使酶激活；快速程序可选择5s，复杂模板需延长至3min。
- 2) 建议采用两步法PCR反应程序，若因使用Tm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℃-64℃的范围作为设定参考。

引物设计的一般性指南

- 1. 先设计探针，然后再设计引物。
- 2. 引物序列和探针序列不能有重叠。最佳引物长度为20个碱基。
- 3. 将GC含量保持在20-80%的范围内。
- 4. 避免运行相同核苷酸。如果无法完全避免重复，则必须保证连续的G碱基小于4个。
- 5. 确保 3'端的最后5个核苷酸包含最多两个G和/或C碱基。
- 6. 如果无法找到合适的引物序列，则可能需要检查靶序列，然后选择另一个扩增子位点或筛选更多的位点。

注意：Tm保持在56℃-64℃。

相关产品

Cat. No.	产品名称
CWY129	磁珠法血液DNA提取试剂盒
CW2298	通用型柱式基因组DNA提取试剂盒
CW0531	新型植物基因组DNA提取试剂盒（适用多糖多酚）
CWY105	甲基化检测样本前处理试剂盒
CWY036	一次性使用游离DNA保存管（玻璃，10mL）
CWY041	一次性使用粪便采集保存管