



# New Star AS-PCR Probe Mixture

**目录号：**CW3306S (1 mL)

**保存条件：**-20±5℃，如需频繁使用，可存放于2-8℃，尽量避免反复冻融。

## 产品内容

Component	CW3306S
2×New Star AS-PCR Probe Mixture	1 mL
ddH <sub>2</sub> O	1 mL

## 产品简介

New Star AS-PCR Probe Mixture 是专用于探针法（TaqMan，Molecular Beacon 等）进行实时荧光定量PCR的预混体系，浓度为2×，包括特异性Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>以及增强剂和稳定剂，操作简单方便。主要用于ARMS-PCR基因分型检测。本品含有的特异性Taq DNA Polymerase能有效减少在常温条件下由引物和模板非特异结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增，酶的激活仅需95℃孵育30 s，大大缩短了PCR的反应时间。独特的PCR缓冲体系与热启动酶的组合，有效抑制了非特异产物的产生，可以更好的完成基因分型。

## 注意事项

1. 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。
2. 避免反复冻融本品，反复冻融可能使产品性能下降。本产品长期保存可置于-20±5℃避光保存。如果在短期内需要频繁使用，可在2-8℃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	10 $\mu$ L反应体系	终浓度
2 $\times$ New Star AS-PCR Probe Mixture	5 $\mu$ L	1 $\times$
Forward Primer, 10 $\mu$ M	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>1)</sup>
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>1)</sup>
Probe, 10 $\mu$ M	0.2 $\mu$ L	0.2 $\mu$ M <sup>2)</sup>
Template DNA	2 $\mu$ L <sup>3)</sup>	
ddH <sub>2</sub> O	up to 10 $\mu$ L	

注意：1) 通常引物浓度以0.2  $\mu$ M可以得到较好结果，可以在0.1-1.0  $\mu$ M作为设定范围的参考。

2) 所用探针的终浓度，与使用的荧光定量PCR仪、探针种类、荧光标记物质种类有关，实际使用时请参考仪器使用说明书，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

本品可采用两步法PCR反应程序，本程序是以伯乐 $\times$ 96荧光定量PCR仪为参照设定。

步骤	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	30s <sup>1)</sup>
变性	95 $^{\circ}$ C	5s
退火/延伸 <sup>2)</sup>	60 $^{\circ}$ C	30s

} 45个循环

注意：1) 本产品所采用的酶须在预变性95 $^{\circ}$ C、30s条件下实现酶的活化。在此条件下，大多数模板可良好的进行解链。对GC含量高、二级结构复杂的模板，可将预变性时间延长至1-4分钟，以使起始模板充分解链。

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。