

Pro Taq HS 预混型探针法 qPCR 试剂盒

Pro Taq HS Premix Probe qPCR Kit

Code No. AG11704

包装量: 500 rxns / 20 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是采用探针法进行 qPCR 的专用试剂, 是一种 2X Premix 试剂, 反应液配制十分简单。本产品的 PCR 反应体系经过了优化, 采用了反应性能优越的 Pro Taq HS 体系 (混合了 Taq 抗体), 能够有效抑制非特异性扩增, 提高 PCR 扩增效率, 可以进行高灵敏度的 Real Time PCR 反应, 可以在宽广的定量区域内得到良好的标准曲线, 从而对靶基因进行准确的定量检测。

保存及运输

保存温度: -20 $^{\circ}$ C 保存

(避光保存, 长期保存放置在 -20 $^{\circ}$ C, 产品融化后可于 4 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。)

运输温度: 干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

产品组成

2X Pro Taq HS Probe Premix*	1 ml X 5 pcs
-----------------------------	--------------

*: 溶液在 -20 $^{\circ}$ C 存放时可能会产生淡黄色或白色沉淀, 使用前可于冰上溶解或手握溶解, 颠倒混匀至沉淀全部消失。请勿使用涡旋振荡。

实验操作

(以 ABI QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System 为例) *1

反应体系 (20 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Pro Taq HS Probe Premix* ²	1X	10 μ l
Template* ³	\leq 100 ng	-
Primer F(10 μ M)* ⁴	0.2 μ M	0.4 μ l
Primer R(10 μ M)* ⁴	0.2 μ M	0.4 μ l
Probe* ⁵	0.1 ~ 0.5 μ M	-
ROX Reference Dye (4 μ M)* ⁶	0.08 μ M	0.4 μ l
RNase free water	-	Up to 20 μ l

*1: 请按照不同仪器推荐反应体系配制反应液。

*2: 产品避免反复冻融, 防止酶活降低; 使用前可上下颠倒混匀, 请勿涡旋振荡混匀。

*3: 在 20 μ l 体系里, DNA 模板添加量通常不高于 100 ng, 必要时可以进行梯度稀释, 以确定合适的模板添加量; 如果使用本产品进行 cDNA 的定量 PCR 扩增, cDNA 原液使用体积不要超过定量 PCR 反应总体积的 10%。

*4: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M, 也可以在 0.1 ~ 1.0 μ M 范围内调整。

*5: 探针浓度与使用的定量 PCR 仪、荧光标记物质种类有关, 请参照仪器说明书及荧光探针的具体使用要求调整。通常探针终浓度可在 0.1 ~ 0.5 μ M 范围内进行调整。

*6: 如果需要使用 ROX 进行荧光信号校准, 请按照仪器推荐量添加。若不需要使用 ROX 的 PCR 仪, ROX Reference Dye 可使用 RNase free water 代替。

qPCR 反应条件
 (两步法 PCR 反应程序) *1

步骤	温度	时间	循环数
Step 1	95°C	30 sec*2	1
Step 2	95°C	5 sec	} 40
	60°C*3	30 sec*3	

- *1: 建议首先采用两步法 PCR 反应程序, 如果得不到良好的实验结果时再优化反应条件; 如果引物 Tm 值较低, 导致两步法扩增效率较差, 可采用三步法进行 PCR 扩增。
- *2: 预变性时间通常设定为 30 sec, 如果模板变性困难, 可以延长预变性时间至 1~2 min。
- *3: 通常情况下 PCR 扩增产物设计在 300 bp 以下, 扩增延伸反应条件设定为 60°C、30 sec 时可以满足要求; 如需提高反应特异性, 可适当提高退火温度; 如需提高扩增效率, 或者 PCR 扩增产物较长, 则可将反应延伸时间适当延长, 同时也可以尝试进行三步法 PCR 扩增。

结果检测

反应结束后, 确认扩增曲线, 并进行标准曲线分析。
 (分析方法请参照仪器操作手册)

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

附录: 适合的定量PCR仪
● 无需添加 ROX Reference Dye 的定量 PCR 仪:

(Bio-Rad) IQ5, CFX96™, CFX384™, CFX Connect™, MJOpticon, Opticon 2;
 (Cepheid) SmartCycler® System, Smart Cycler II System;
 (Roche) LightCycler® 2.0, 480, 96;
 (Qiagen) Rotor-Gene® Q, 3000, 6000;
 (Bioer) Line-Gene;
 (Eppendorf) Mastercycler ep realplex;
 (Analytik Jena) qTOWER3;
 (TaKaRa) Thermal Cycler Dice™ TP700, TP760, TP900, TP960, TP950, TP970, TP980, TP990;

● 需要添加 ROX Reference Dye (20 μM) 的定量 PCR 仪:

(ROX Reference Dye 终浓度为 0.4 μM)
 (Thermo) ABI 7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT Fast, StepOne, StepOnePlus;

● 需要添加 ROX Reference Dye (4 μM) 的定量 PCR 仪:

(ROX Reference Dye 终浓度为 0.08 μM)
 (Thermo) ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™ 3 / 5, QuantStudio™ 6 / 7 / 12K Flex, QuantStudio™ Dx;
 (Agilent) Mx3000P™, Mx3005P™, MX4000™。