



2×RealStar Fast Probe Mix (UNG) 2×RealStar Fast 探针法 qPCR 预混液 (UNG)

版本号: V230901

货号: A352
保存: -20°C
运输: 低温

货号	规格
A352-01	1.1 ml
A352-05	1.1 ml×5
A352-10	1.1 ml×10

【产品概述】

本产品是在2×RealStar Fast Probe Mix (Cat#A351) 基础之上, 通过添加优化比例的dUTP和UNG酶而开发出的新型防污染探针法实时荧光定量PCR预混体系。产品含有优化浓度的GenStar Fast HSTaq DNA Polymerase、dNTPs、dUTP、UNG酶(尿嘧啶DNA糖基化酶)、Mg²⁺、反应缓冲液和稳定剂等成分。在PCR反应中以dUTP代替dTTP, 扩增产物片段中的T被U取代, 形成含dU碱基的PCR扩增产物, 而高活性的UNG酶可以快速降解反应体系中的含U的DNA片段, 有效消除环境中PCR产物的残留污染, 大大降低扩增产物污染导致的假阳性, 从而保证扩增的特异性和准确性

本产品为2×探针法防污染预混实时荧光定量快速PCR反应体系, 使用时只需加入模板、引物、探针、ROX Reference Dye (根据不同荧光定量PCR仪选择使用) 和水, 使其工作浓度为1×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度地减少人为误差、节约PCR实验操作时间、降低污染机率。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A352-01	A352-05	A352-10
ZA352-101	2×RealStar Fast Probe Mix (UNG)	1.1 ml	1.1 ml×5	1.1 ml×10
ZA320-101	High ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl
ZA321-101	Low ROX Reference Dye	44 µl	220 µl	440 µl

注: 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:

需加 High ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。

需加 Low ROX Reference Dye (50×)的机型: ABI Prism7500 /7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

【保存条件】

-20°C保存, 避光, 保质期 24 个月, 避免反复冻融。如果经常使用, 可置于 4°C保存至少 3 个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂: cDNA 或 DNA 模板、引物、探针。

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。

操作示例: 分别以20 µl和50 µl PCR反应体系为例



1. PCR 反应体系的建立:

组分	20 μ l PCR反应体系使用量	50 μ l PCR反应体系使用量
DNA模板 ^a	0.4 μ l	1 μ l
正向引物 (10 μ M) ^b	0.5 μ l	1 μ l
反向引物 (10 μ M) ^b	0.5 μ l	1 μ l
探针 ^c	0.5 μ l	1 μ l
2 \times RealStar Fast Probe Mix (UNG)	10 μ l	25 μ l
High/Low ROX Reference Dye ^d	0.4 μ l	1 μ l
Sterile Water	补足至20 μ l	补足至50 μ l

^a模板量: 10-100 ng基因组DNA, 或1-10 ng cDNA, 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。

^b引物: 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果, 可以终浓度0.1-1.0 μ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。为了获得理想的qPCR的效果, 扩增片段的长度建议为80-200 bp。

^c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。

^d不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同, 或需要添加或不需要添加, 请根据仪器说明进行操作。

2. PCR 反应条件的设置:

建议采用两步法 PCR 反应程序, 如果该程序得不到良好的实验结果时, 再进行 PCR 条件的优化。由于使用 Tm 值较低的引物或扩增片段较长等原因, 两步法 PCR 反应扩增性能较差时, 可以尝试进行三步法 PCR 扩增反应。

a) 两步法反应程序

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	15 s	35-45
退火-延伸	60°C	30 s	

注: 以上举例为常规 qPCR 反应系统, 仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件, 并根据比例放大或缩小反应体系。

b) 三步法反应程序

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	5 min	
预变性	95°C	2 min	
变性	95°C	15 s	35-45
退火	55-65°C	15-30 s	
延伸	72°C	30 s	

注: 以上举例为常规 qPCR 反应系统, 仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件, 并根据比例放大或缩小反应体系。

3. 选择合适的 real time PCR 仪完成实验, 并分析实验结果。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。