

FastTaqMan Mixture (With ROX)

使用说明书

产品名称	单位	货号
2×FastTaqMan Mixture (With ROX)	1ml	MF055-01
2×FastTaqMan Mixture (With ROX)	5×1ml	MF055-05

【储存条件】

长期保存，请置于-20℃，避光，有效期 24 个月。经常使用，2-8℃ 保存，尽量避免反复冻融。

【产品简介】

FastTaqMan Mixture(With ROX)是专用于探针法(TaqMan, Molecular Beacon 等)实时荧光定量 PCR 的预混体系，浓度为 2×，包含 Fast Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺和 ROX 校正染料，操作简单方便。主要用于基因组 DNA 靶序列和 RNA 反转录后的 cDNA 靶序列检测。本品含有的 Fast Taq DNA Polymerase，能有效减少在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增，酶的激活仅需在 95℃ 孵育 30s。整个 PCR 反应过程比普通反应可节省约 40 分钟，大大缩短了 PCR 的反应时间。独特的 PCR 缓冲体系与快速热启动酶的组合，有效抑制了非特异产物的产生，并显著提高了 PCR 的扩增效率，荧光信号更强，灵敏度更高，线性范围更宽。该产品适用范围广，可用于普通和快速定量 PCR 程序。所含的 ROX 染料可校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差，适用于以 ROX 作为校正染料的荧光定量 PCR 仪。

【产品组分】

2× FastTaqMan Mixture (With ROX)	1ml
RNase-Free Water	1ml

【使用方法】

以下举例为常规的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的不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系：

试剂	50 μl 反应体系	终浓度
2×FastTaqMan Mixture (With ROX)	25 μl	1×
Forward Primer, 10 μM	1 μl	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	1 μl	0.2 μM
Probe, 10 μM	1 μl	0.2 μM
Template DNA	2 μl	
RNase-Free Water	up to 50 μl	

注意：1) 通常引物浓度以 0.2 μM 可以得到较好结果，可以在 0.1-1.0 μM 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。

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 10-100 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：两步法

PCR:

步骤	温度	时间	
预变性	95°C	30 s	} 35-40 个循环
变性	95°C	5 s	
退火/延伸	60°C	30 s	

注意：1) 本产品所采用的酶须在预变性 95°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 T_m 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°C-64°C 的范围作为设定参考。

【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) 本产品中含有荧光染料 ROX，保存本产品或配制 PCR 反应液时应避免强光照射。
- 3) 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°C，避光。如果在短期内需要频繁使用，可在 2-8°C 保存。

**【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。