

2x M5 GoldStar TaqMan Mixture (UNG+Low ROX) 使用说明书

产品名称	单位	货号
2x M5 GoldStar TaqMan Mixture (UNG+Low ROX)	1ml	MF304-01
2x M5 GoldStar TaqMan Mixture (UNG+Low ROX)	5x1ml	MF304-05

【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用，可置于 4°C 保存至少六个月。

【产品简介】

2x GoldStar TaqMan Mixture (UNG) 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 2x，包含 GoldStar Taq DNA polymerase、PCR Buffer、dNTPs (dTTP 全部被 dUTP 所取代)、UNG 酶和 Mg²⁺，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 靶序列的检测，如基因表达分析，拷贝数分析，SNP 基因型分析等。本产品中运用了 dUTP-UNG 防污染系统，在 PCR 反应体系配制过程中加入了 dUTP，因此就形成了含有 dU 碱基的扩增产物。而此产物可以在下次进行 PCR 反应前，由 PCR 体系中的 UNG 酶处理消除。这样就有效的去除了 PCR 产物的残留污染，大大降低了由于扩增产物污染而导致的假阳性。UNG 酶在 PCR 循环中的预变性步骤即可被灭活，因此不会影响新的含 dU 碱基 PCR 产物的形成。

本品含有的 GoldStar Taq DNA Polymerase 是一种经化学修饰的、全新高效热启动酶，在常温下没有聚合酶活性，有效避免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，酶的激活须在 95°C 下孵育 10 分钟。独特的 PCR 缓冲体系与热启动酶的组合，显著提高了 PCR 的扩增效率，荧光信号更强，灵敏度更高，可以检测单拷贝的模板。使用本产品可以得到更广的线性范围，对目的基因定量更准确。

ROX 染料用于校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差，一般用于 ABI、Stratagene 等公司的 Real Time PCR 扩增仪。不同仪器的激发光学系统有所不同，因此 ROX 染料的浓度必须与相应的荧光定量 PCR 仪相匹配。

【产品组份】

	MF304-01	MF304-05
2x GoldStar TaqMan Mixture (UNG)	1ml	5x1ml
50x Low ROX	40 µl	200µl
Nuclease-free ddH ₂ O	1ml	5x1ml

【ROX 调整方式】

ROX 染料用于校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差，一般用于 ABI、Stratagene 等公司的 Real Time PCR 扩增仪。不同仪器的激发光学系统有所不同，因此 ROX 染料的浓度必须与相应的荧光定量 PCR 仪相匹配。本产品适用于需要 Low ROX 校正的仪器：ABI Prism7500/7500 Fast, QuantStudio® 3 System, QuantStudio® 5 System, QuantStudio® 6 Flex System, QuantStudio® 7 Flex System, ViiA 7 system, Stratagene Mx3000/Mx3005P, Corbett Rotor Gene 3000 等。

【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。配制反应液时，请使用新的或者无污染的枪头和离心管，尽量防止污染。

【操作示例】：按下表配制 PCR 反应体系：

Template DNA	X* μ l
2x M5 GoldStar TaqMan Mixture(UNG)	10 μ l
Primer 1 (10 μ M)	0.5 μ l
Primer 2 (10 μ M)	0.5 μ l
Probe (10 μ M)	0.5 μ l
50 \times Low ROX (可选)	0.5 μ l
Nuclease-free ddH ₂ O 补足至	20 μ l

建议的 PCR 条件（两步法）：**UNG 酶消化 37 $^{\circ}$ C 或 50 $^{\circ}$ C 2-10 min.**95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min.**

35-40 cycles of:

95 $^{\circ}$ C 变性 15 sec.60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 1 min.

*: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。以 two Step RT PCR 反应的 cDNA （RT 反应液）作为模板时的添加量要超过 PCR 反应液总体积的 10%。一般情况下目标片段在 300bp 以下时， 延伸时间 30 秒即可， 但一部分仪器， 为测定稳定的荧光， 延伸时间需要大于 30 秒。扩增曲线散乱， 或者各孔间差异较大时， 请设定较长的延伸时间（45-60 秒）。

****注意：**

- 1) 本产品所采用的酶须在预变性 95 $^{\circ}$ C、10min.条件下实现酶的活化。
- 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 $^{\circ}$ C-64 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考。

**【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。