



5×FastStar Probe qPCR Buffer

目录号：CW3373S (1 mL)
CW3373M (5 mL)

保存条件：-30~-15℃。

产品内容

Component	CW3373S 1 mL	CW3373M 5 mL
5×FastStar Probe qPCR Buffer	1 mL	5 mL
ddH ₂ O	1 mL	5 mL

产品简介

5×FastStar Probe qPCR Buffer专用于探针法(TaqMan, Molecular Beacon等)实时荧光定量PCR。本产品是经过特殊优化的缓冲体系,可显著提高多重靶标下的扩增性能、扩增特异性、低拷贝基因的检测灵敏度和扩增线型,能够对靶基因进行准确定量、检测,重复性好,可信度高。5×FastStar Probe qPCR Buffer包含 PCR Buffer 和 Mg²⁺等,其中不含有dNTP和酶,只需客户加入dNTP,酶,模板,引物,探针即可,使用方便。

注意事项

- 使用前请在本品完全融化后上下颠倒轻轻混匀,并经短暂离心后使用。
- 避免反复冻融本品,反复冻融可能使产品性能下降。本品可置于-20℃长期保存。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qPCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据具体用途、模板、引物结构、目的片段大小和扩增效果不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	25 μ L体系	50 μ L体系	终浓度
5×FastStar Probe qPCR Buffer	5 μ L	10 μ L	1×
Forward Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M
Probe, 10 μ M	0.5 μ L	1 μ L	0.2 μ M ²⁾
DNA Polymerase	0.6 μ L	1.2 μ L	
dNTP ³⁾ , 10mM	0.375 μ L	0.75 μ L	
Template DNA ⁴⁾	X μ L	X μ L	
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	Up to 50 μ L	

注意：

- 1) 通常引物浓度以0.2 μ M可以得到较好结果，可以在0.1–1.0 μ M作为设定范围的参考。
- 2) 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。
- 3) 通常dNTP浓度以150 μ mol/L可以得到较好的结果，可以在50~200 μ mol/L作为设定范围范围进行参考。
- 4) 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

步骤	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	5-60 s ¹⁾	1
变性	95 $^{\circ}$ C	15 s ²⁾	} 40-45
退火/延伸	60 $^{\circ}$ C	30 s ³⁾ *	

注意：

- 1) 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，标准程序选择30 s，快速程序最可选5 s，如模板结构复杂，可将预变性时间延长至3 min，以提高预变性效果。
- 2) 该变性标准程序选择15 s，快速程序最短可选5 s。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途