

M5 Super TaqMan Mixture 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Super TaqMan Mixture	1ml	MF826-01
M5 Super TaqMan Mixture	5x1ml	MF826-05

【储存条件】

-20℃。如需频繁使用，可存放于 2-8℃，尽量避免反复冻融。

【产品组分】

	MF826-01	MF826-05
2×Super TaqMan Mixture	1ml	5x1ml
ddH ₂ O	1ml	5x1ml

【产品简介】

M5 Super TaqMan Mixture 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 FastStar DNA Polymerase、PCR Buffer、dNTPS 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 cDNA 靶序列检测。

本品含有的 FastStar DNA Polymerase 是一种抗 Taq 酶单克隆抗体和 MF041 Taq DNA Polymerase 的混合制品，高温变性前由于 Taq 酶抗体与 Taq 酶结合抑制 DNA 聚合酶活性，能够在低温条件下有效抑制引物的非特异性退火及引物二聚体引起的非特异性扩增。Taq 酶抗体在 PCR 反应最初的 DNA 变性步骤中变性，DNA 聚合酶活性恢复，达到热启动效果，无需特殊地对 Taq 酶抗体失活处理。

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，热启动时间更短，线性范围更宽。

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。

本产品不需要 ROX 校正，适用的仪器有 Roche LightCycler 480, Roche LightCycler 96, Bio-rad iCycler iQ, iQ5, CFX96 等。

如仪器为 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，需要加入 50×Low ROX 校正。

如仪器为 ABI Prism7000/7300/7700/7900, Eppendorf, ABI Step One/Step One Plus 等，需要加入 50×High ROX 校正。

【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。本产品长期保存可置于 -20℃，避光。如果在短期内需要频繁使用，可在 2-8℃ 保存。

【操作步骤】

以下举例为以人基因组 DNA 为模板，扩增 1Kb 的片段的 PCR 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不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系

试剂	50 μ l 反应体系	终浓度
2 $\times$ Super TaqMan Mixture	25 μ l	1 $\times$
Forward Primer, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Reverse Primer, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ¹⁾
Probe, 10 μ M	1 μ l	0.2 μ M ²⁾
Template DNA	2 μ l ³⁾	
50 $\times$ Low ROX or High ROX (optional) ⁴⁾	1 μ l	1 $\times$
ddH ₂ O	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 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。
- 4) 不同仪器的激发光学系统有所不同，根据使用荧光定量的仪器选择加入 50 $\times$ Low ROX or 50 $\times$ High ROX。

2. PCR 反应程序

建议采用两步法 PCR 反应程序，本程序是以 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪为参照设定。

步骤	温度	时间	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	15 s	} 35-40 个循环
退火/延伸	60 $^{\circ}$ C	1 min	

注意：

- 1) 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。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定。

【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。