

描述: 3GmTTx 冻干球, 其包含化学封闭热启动 3GTaq DNA 聚合酶、极度耐热逆转录酶(Extreme ThermoStable Reverse Transcriptase, ET RTase)、热敏 UDG 酶、dA/C/G/UTP(不含 dTTP)、Mg²⁺与其它稳定剂。该制品仅在 Mg²⁺条件下, 即可对于 DNA 和 RNA 进行无偏差扩增。可以高灵敏的检测 DNA 和 RNA 分子。得益于耐受 95°C 高温的 ET RTase, 无论是 DNA 或 RNA 病毒, 均可通过 加热反应来释放样本中的核酸分子, 并用于后续 PCR 扩增。因此, 粗制样本该试剂可以直接进行检测, 无需核酸纯化。

试剂特性: (1) Chemi 3GTaq 酶为化学修饰 (<50°C 完全无活性), 仅有 95°C 加热 5min 后才能恢复活性; (2) ET RTase, 在 95°C 加热 15min 后仍然保留全部活性, 该酶通过修改 TTx 酶配体中心, 使其逆转录活性, 由 Mn²⁺依赖变为 Mg²⁺, 这种变化使得 RT-PCR 得一同步化。(3) TTx 聚合酶活性中心的修改, 导致其 5'-3'外切酶活性下降。因此, 3GTaq 酶提供额外的 Flap5'-3'外切酶活性来切割 TaqMan 探针。(4)以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 500bp, 扩增效率最高的长度为 70-150bp。(5) 制品不含 dTTP, 且包含热敏 UDG, 可有效的防止气溶胶引起的污染。

组分

名 称	96Tx20μl	480Tx20μl
3GmTTx Bead(with UDG)	96 个/瓶	96 个/瓶 x5

注意事项:

- (1) 冻干制品未溶解状态下: 37°C 下运输 (1 个月有效), 25°C 室温 (1 年有效), 长期保存请置于-20°C 以下 (5 年有效)。
- (2) 每球含有 0.5U 的 Chemi 3GTaq, 0.2 pmol 的 ET RTase, 0.1U 的热敏 UDG 酶。
- (3) 每球的反应体积为 20 μl, 直径 2.4 mm。其它体积和规格的冻干球, 可从 HaiGene 订制。
- (4) 3GTaq 酶为化学修饰的热启动酶, 必须于 95°C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 不能随意缩短时间。

操作方法

1.按照如下组分配制 20 μl PCR 反应体系

	1x浓度
3GmTTx Bead	1 个
Primer F1 (10 μM)	0.8 μl 400 nM
Primer R1 (10 μM)	0.8 μl 400 nM
Probe1 (10 μM)	0.4 μl 200 nM
其它引物和探针	x μl
模板 DNA/RNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	20 μl

反应体系配制完毕后, 可于室温放置 2~5min, 以消化潜在的污染物, 再置于 PCR 仪上进行后续反应。

2. DNA 的 qPCR 反应程序:

Stage 1	95°C	5 min	必须步骤	热启动
Stage 2	95°C	10 s		
循环 40 次	55-65°C	30 s	收集信号	退火/延伸

3. 纯化 RNA 或粗样本的 qPCR 反应程序:

Stage 1	95°C	5 min	释放核酸、变性、热启动
Stage 2	55-70°C	10 min	逆转录
Stage 3	95°C	10 s	
循环 40 次	55-65°C	30 s	收集信号 退火/延伸