

描述: 该产品的核心原料酶为 HotStart AptaTaq DNA Polymerase 组装而成, 其专用于 DNA 模版的 TaqMan 探针法的 qPCR 扩增。

该产品具有以下特征: (1) AptaTaq DNA 聚合酶为高亲和力的核酸适配体(Aptamer)封闭酶活性中心, 因此在低温下 Taq DNA 聚合酶无活性, 当温度升高到 50°C, 核酸适配体脱离酶活性中心, 从而释放酶活。Aptamer 具有全程扩增调控能力, 因此, 更易获得高灵敏度扩增, 以及用于多重 TaqMan PCR 扩增。除此外, AptaTaq DNA 聚合酶是一种快速酶, 该酶具有 4kb/min 的延伸速度, 在快速 qPCR 中, 10s 的退火和延伸时间, 即可完成片段的扩增和探针切割。(2) 专属的冻干配方, 赋予了该试剂的多用途性, 不仅能满足常规的科研需求, 还使得冻干产品开发和生产在一种试剂下同步完成。使用本试剂无需加入任何其它辅助试剂即可完成全体系的冻干制品。

组分:

名称	200Tx20 μ l	1000Tx20 μ l
5xApta qPCR LyoMix	0.8 ml	0.8 mlx5

储存: 长期保存请置于-20°C 以下 (18 个月有效); 制品反复冻融 10 次不影响性能, 但应避免反复冻融; 短期推荐置于 2-8°C 保存, 在此条件下制品稳定储存 2 周。制品由于含有高浓度的冻干赋形剂, 因此, 在融化时可能会有白色不溶物, 此时放置到 30°C (或手心) 3-5min 后即可完全溶解, 性能无下降。

1. 用于常规科研检测和冻干前的预实验

1.1 20xPCR Primer Mix 的准备

	20x	1x
Primer F	4-16 μ M	0.2~0.8 μ M
Primer R	4-16 μ M	0.2~0.8 μ M
Probe	4-8 μ M	0.2-0.4 μ M

1.2 配制 PCR 反应体系

5xApta qPCR LyoMix	4 μ l
20xPCR Primer Mix	1 μ l
模板 DNA (最高)	11 μ l
Total	20 μl

1.3 qPCR 扩增程序

预变性	95°C	1min
循环	95°C	10s
40-45	60°C (信号采集)	10~15s

2. 冻干反应

专属的配方使得该试剂, 易于成球冻干, 无需添加任何其它冻干辅料。但对于不同的用户来讲, 由于冻干形式、冻干体积、上机量、冻干容器、冻干磨具等因素存在差异, 以下程序仅供参考。进一步的程序优化均需根据具体情况自行调整。对于非专业人员来讲, 请直接采购 HaiGene 的冻干制品, 或委托订制。

2.1 配制 PCR 冻干体系

5xApta qPCR LyoMix	4 μ l
20xPCR Primer Mix	1 μ l
Total	5 μl

体系配置完毕后, 1h 内完成, 成球步骤, 进行后续冻干。

2.2 制品成型后的冻干程序

-50°C 预冻 5-10min; -50°C 4-8h (真空段); -50°C 升温到 25°C (每小时升温 5°C); 25°C 2-10h; 25°C 恒温。