

描述: 本制品是采用 TaqMan 探针法进行 Real-Time PCR 的专用试剂, Chemi3G qPCR Bead 中包含化学修饰的热启动 3G-Taq DNA 聚合酶(100%热启动)、反应 Buffer、dNTP、Mg²⁺与冻干赋形剂(不含 ROX)。优化的反应体系, 使得该制品可用于 1~4 重的探针法定量 PCR。

3G-Taq DNA 聚合酶为第三代 DNA 聚合酶, 其具有最高的杂质耐受性(对乙醇、胍盐、肝素具有极高的耐受性), 因此, 对于纯度较差的 DNA 模板, 该制品仍然可以获得理想的实验结果。RAPA3G DNA 聚合酶为化学法修饰的 HotStart 版本, 其在 50°C 以下 100%无活性, 只有 95°C 条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力。因此该系统可以有效抑制非特异性 PCR 扩增, 极大的提高了 PCR 扩增特异性。

组分

名称	96Tx25μl
Chemi3G qPCR Bead	96 个

注意事项:

(1) -20°C 以下干燥密封保存(60 个月有效); 室温干燥密封保存(12 个月有效)。由于制品为冻干形态, 极易吸潮, 在制品开封后, 推荐放置-20°C 以下保存 24 个月。

(2) 3G Taq 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。

(3) 冻干球直径约 2.6mm。

操作方法

1.按照如下组分配制 25 μl PCR 反应体系

	1x浓度
Chemi3G qPCR Bead	1 个
Primer F1 (10 μM)	1 μl 400 nM
Primer R1 (10 μM)	1 μl 400 nM
Probe1 (10 μM)	0.5 μl 200 nM
其它引物和探针	x μl
模板 DNA	10 ng
ddH ₂ O Up to	25 μl

2. 进行 Real-Time PCR 反应,通常采用两步法, 程序如下:

Stage 1	95°C	5 min	热启动
Stage 2	95°C	10 s	变性
40cycles	60°C	30 s	收集信号 退火/延伸

注意: 退火延伸温度可在 55-65°C 调整

注意: 由于该酶为化学修饰的热启动 RAPA3G DNA 聚合酶, 必须于 95°C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 该热启动步骤不能缩短时间。

3. 在多数情况下, 采用两步法程序可获得理想的扩增效果, 在无法达到预期理想效果的情况下, 也可采用三步法 PCR 程序, 程序如下:

Stage 1	95°C	5 min	热启动
Stage 2	95°C	10 s	变性
	55°C	10 s	退火
40cycles	72°C	30 s	收集信号 延伸