

描述: DualStart 3GmTTx qPCR Bead 中包含核酸适配体封闭的热启动 3GTaq DNA 聚合酶、极度耐热逆转录酶 (Extreme ThermoStable Reverse Transcriptase, ET RTase)、dNTP、Mg²⁺激活剂(Activator)、Mg²⁺与冻干赋形剂。该制品仅在 Mg²⁺条件下(无需 Mn²⁺)，即可对于 DNA 和 RNA 进行无偏差扩增。其为 TaqMan PCR 的专用试剂(不含 ROX)，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) 3GTaq 酶和 ET RTase 均为核酸适配体 (Aptamer) 封闭热启动的热启动酶 (30°C 以下活性封闭>90%)，在 50°C 以上完全恢复活性，并全程调节 PCR 扩增。除此外，在反应初始阶段，Blocker 对反应体系的 Mg²⁺进行完全封闭，聚合酶活性被完全阻断，在 95°C 加热 2min 后，Activator 水解掉 Blocker，Mg²⁺得以释放，从而启动扩增反应，从而实现双重热启动功能。(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) 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 500 bp，扩增效率最高的长度为 70-150 bp。

组分

名 称	96Tx25μl
DualStart 3GmTTx 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) 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

		1×浓度
DualStart 3GmTTx 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/RNA	10 ng	
ddH ₂ O Up to	25 μl	

2. DNA 的 qPCR 反应程序:

Stage 1	95°C	2 min	释放 Mg ²⁺ 、变性核酸
Stage 2	95°C	10 s	
40cycles	55-65°C	30 s	收集信号 退火/延伸

3. RNA 的 qPCR 反应程序:

Stage 1	95°C	2 min	释放核酸与 Mg ²⁺ 、变性
Stage 2	55-70°C	10 min	逆转录
Stage 3	95°C	10 s	
40cycles	55-65°C	30 s	收集信号 退火/延伸