

Superbrilliant[®] 第三代 ZAPA 动物组织直扩 PCR 试剂盒
Superbrilliant[®] ZAPA3G Tissue Cell PCR Kit

Cat. No.: ZS-M12010

组分:

货号	名称	ZS-M12010S (100T×50μl)	ZS-M12010M (500T×50μl)	ZS-M12010L (1000T×50μl)
103048	2×ZAPA3G Universal PCR Mix	2.5 ml	12.5 ml	25 ml
103051	快速 DNA 释放剂 A	25 ml	125 ml	250 ml
103052	快速 DNA 释放剂 B	25 ml	125 ml	250 ml

储存: 长期储存置于-20℃ 以下, 可保存 2 年; 短期使用置于 4℃, 可保存 3 个月。

简介: ZAPA3G DNA 聚合酶是一种新型的酶体系, 经基因工程改造和电子重构架, 增加了 DNA 的亲合力, 与其他高保真酶相比具有行业领先性。ZAPA3G DNA 聚合酶具有 6kb/min 以上的扩增速度, 具有高度的杂质耐受性、长片段扩增能力、高扩增成功率、高产量, 这些特点使得 ZAPA 三代系列产品可用于粗制样品的直接扩增, 无需核酸纯化步骤。该酶经化学修饰, 采用专有的热启动技术确保 50℃ 以下 100% 无活性, 因此可在室温建立反应体系。热启动配方中, 酶是结合在一个特定载体上, 使其在第一部变性之前一直保持灭活状态, 只有 95 度条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力, 从而启动 PCR 扩增, 这样就消除了反应设定和启动过程中非特异性启动导致的产物增加, 提高 PCR 扩增的特异性、PCR 产物的产量、准确性和精确性。该试剂盒独特的反应缓冲液, 可在宽范围。中得到良好的扩增结果、检测灵敏度更高、信号更强。

当执行高保真 PCR 时, 在产生足够的产物用于克隆的前提下, 减少循环数是很重要的。额外的循环数增加了产量却降低了保真性: 反应早期少量的错配都是固定的, 此后在每个连续循环中都得到放大, 在随后的周期, 任何额外的错误都将导致突变扩增的比例增加。该 PCR Mix 具有 5'-3' 的聚合酶活性、5'-3' 的外切酶活性、3'-5' 的外切酶活性, 产物部分带有 "A" 尾巴, 部分为平末端, 因此产物可用于 TA 克隆或平端克隆。该制品中已经含有溴酚蓝染料, PCR 扩增完毕后可直接点样于琼脂糖凝胶, 无需再加入 DNA Loading Buffer。

特点和用途:

(1) 高杂质耐受性: 该 PCR Mix 可直接使用血液、蛋白含量较高的动物组织材料进行 PCR 扩增, 无需基因组提取。

(2) 粗制样品的扩增能力: 扩增能力>4kb。

(3) 快速 PCR: 该酶具有 6kb/min 以上的扩增速度, 可显著的缩短 PCR 的扩增时间, 在常规测试条件下, 10s 的延伸时间可完成 1kb 的基因组 DNA 扩增。

(4) 高 PCR 成功率: 与其它类型的 PCR 扩增试剂对比中, ZAPA3G Universal PCR Mix 表现出最佳的 PCR 扩增成功率。

(5) 高保真性能: 该制品包含一定比例的 ZAPA High Fidelity 超保真 DNA 聚合酶, 因此其具有一定的保真性能 (挑菌落测试, 其保真性能约为 Taq DNA 聚合酶的 60 倍)。

(6) 热启动, 防止非特异性扩增: ZAPA3G Universal PCR Mix 产品采用专有的热启动技术, 确保 50 度以下完全无活性, 仅有 95 度加热 5min 以后才能恢复其活性, 因此可最大限度的提高扩增的特异性, 减少非特异性产物的产生。

(7) 高效的快速 DNA 释放剂: 尽管该 PCR Mix 可以直接使用组织细胞材料进行扩增, 但我们仍然推荐采用 DNA 释放剂进行样本的快速前处理 (约需要 5min, 可高通量操作)。DNA 释放剂的前处理, 使得制备的 DNA 模板可以进行多次、多基因扩增, 并长期保存 DNA, 经 DNA 释放剂处理的样本, 在室温条件下放置 1 个月, 无任何后续影响, -20 可长期保存。

使用方法:

1. DNA 释放

(1) 采用加热法: 取 2-10 个毛发囊、1-10mg 动物组织等材料, 放入到 0.2ml EP 管中, 加入 50 μ l 快速 DNA 释放剂 A, 于 PCR 仪中 98°C 加热 5min, 加热完毕后加入 50 μ l 快速 DNA 释放剂 B, 混合均匀, 即可使用。

(2) 采用钢珠研磨法: 取 1-10mg 动物组织等材料, 放入到 2ml EP 管中, 加入 250 μ l 快速 DNA 释放剂 A 和 2-3 粒钢珠, 研磨 1-2min 成浆体装。研磨完毕后加入 250 μ l 快速 DNA 释放剂 B, 混合均匀, 即可使用。

2. 按下表配制 PCR 反应体系并混合均匀:

2×ZAPA3G Universal PCR Mix	25 μ l
上游引物(10 μ M)	2 μ l
下游引物(10 μ M)	2 μ l
步骤 1 制备的模板 DNA	2 μ l
ddH ₂ O	19 μ l

3. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	95°C	5 min
25-40 Cycles	95°C	20 s
	50~60°C	20 s
	72°C	4-6 kb/min
Last Cycle	72°C	2 min

请注意: 该制品为热启动制品预变性步骤 5min 不可缩短, 否则 DNA 聚合酶无法恢复活性。

4. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5 μ l, 电泳结束在紫外灯下检测条带。

5. 注意事项: (1) 当模板 GC 含量>70%时, 请添加 Supersmart[™] 5 $\times$ 高 GC 含量模板、长片段辅助 buffer (Cat. No.: ZS-M12012)。 (2) 当扩增片段<1kb 时, 延伸时间可直接使用 15s; 扩增片段 1-2kb 时, 延伸时间使用 45s; 扩增片段 2-3kb 时, 延伸时间使用 1min; 当扩增片段>3kb 时, 请按照 2kb/min 的延伸时间进行设置。 (3) 尽管该酶具有 6kb/min 的延伸速度, 但按照 2kb/min 设置延伸时间的条件下, 能获得最高的产量 (4) 当采用全血、血浆等 蛋白含量极高的样本时, 扩增完毕后可能会有变性的蛋白沉淀, 请离心后再进行点样和电泳。