

Superbrilliant[®] 热启动 rTth DNA/RNA 聚合酶Superbrilliant[®] HotStart rTth DNA/RNA Polymerase

Cat. No.: ZS-M13009

组分

| 货号 | 名称 | ZS-M13009S (250U) | ZS-M13009M (2.5KU) | ZS-M13009L (5KU) |
|--------|--|----------------------|-----------------------|---------------------|
| 103125 | HotStart rTth DNA/RNA Polymerase(5U/μl) | 50μl | 500μl | 500μl x 2 |
| 103126 | 5×rTth Buffer (Mg ²⁺ free) | 1ml | 1ml x 10 | 1ml x 20 |
| 103127 | 100mM Mg ²⁺ | 1ml | 1ml x 2 | 1ml x 4 |
| | 说明书 | 1份 | 1份 | 1份 |

储存: 长期保存, 请避光置于-20°C 可保存 3 年。

简介: 热启动 rTth DNA/RNA 聚合酶经电子重构架技术, 改变了 Tth 的活性配体中心, 在经过优化的反应 Buffer 中, 表现出卓越的 RT-PCR 特性, 使其在 Mg^{2+} 条件下仍然具有极强的逆转录活性。HotStart rTth DNA/RNA Polymerase 在 Mg^{2+} 条件下对于 DNA 模板和 RNA 模板扩增能力几乎无偏差, 增加了其应用的拓展性, 可在多种类型的实验中进行。在热启动的条件下, $92^{\circ}C$ 加热 5min 后, 可同步灭活病毒、变性杂蛋白、释放 RNA 核酸, 再进行逆转录和后续的探针 RT-PCR 扩增。这种特性允许在不进行核酸提取的情况下, 直接加入粗制样本进行扩增。

应用范围:

- (1) 采用单酶进行一步法探针 qRT-PCR
- (2) 在单管相同的 Buffer 系统对 RNA 和 DNA 进行多重检测
- (3) 超多重的 RNA 模板扩增
- (4) RNA 的 NGS 建库
- (5) 高保真 RT-PCR 扩增等

热启动 rTth DNA/RNA 聚合酶的特性:

- (1) 依赖于 DNA 模板的聚合酶活性;
- (2) 极强的依赖于 RNA 模板的逆转录活性;
- (3) $5' -3'$ 外切酶活性, 用于探针切割;
- (4) 金属配体离子为 Mg^{2+} , 通常使用浓度 $2\sim 3.5mM$;
- (5) 相比于 Tth DNA 聚合酶, rTth 的耐热性能有所下降, $92^{\circ}C$ 条件下的半衰期为 30min;

(6) 热启动 rTth 在 50°C 条件下 100% 无活性, 92°C 加热 5min 后恢复活性;

(7) 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 280bp, 扩增效率最高的长度为 70-150bp。

操作方法

1. 按以下组分配制 20μl qRT-PCR 反应液

| | |
|---|------------|
| HotStart rTth DNA/RNA Polymerase(5U/μl) | 0.2μl |
| 5×rTth Buffer(Mg ²⁺ free) | 4μl |
| 100mM Mg ²⁺ | 0.5μl |
| dNTP Mixture(10mM each) | 0.2μl |
| 上游引物 (10μM) | 0.4μl |
| 下游引物 (10μM) | 0.4μl |
| 荧光探针 (10μM) | 0.2μl |
| RNA | Xμl |
| ddH ₂ O | Up to 20μl |

*注 (1)Mg²⁺通常使用 2.5mM 浓度, 可在 2-3.5mM 调整。

(2)引物和探针的使用浓度可在 0.1-0.8ul 直接调整。

2. Direct One-Step qRT-PCR 程序

| | | | |
|------|------------|----------------|--|
| 92°C | 5min | 热启动 | |
| 60°C | 5min | 逆转录 | |
| 92°C | 10s | } 35-45 cycles | |
| 60°C | 30s (收集信号) | | |

*注 rTth 的最佳变性温度为 92°C，其它温度条件都会导致试剂性能下降。逆转录步骤的温度可根据实际情况在 58-72°C 调整。

