

Superbrilliant[®] 第三代 2×ZAPA 全能 PCR 预混液(with dye)**Superbrilliant[®] 2×ZAPA3G Universal PCR Mix (with dye)**

Cat. No.: ZS-M12007

组分:

货号	名称	ZS-M12007S (100 T×25 µl)	ZS-M12007M (500 T×25 µl)	ZS-M12007L (1000 T×25 µl)
103048	2×ZAPA3G Universal PCR Mix	1.25 ml	6.25 ml	12.5 ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

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 的亲和力, 与其他高保真酶相比具有行业领先性。该酶具有 6kb/min 以上的扩增速度, 扩增基因组或 cDNA 可达 10kb, 扩增质粒或噬菌体 DNA 可达 20kb。ZAPA3G DNA 聚合酶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 ZAPA3G 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: 该酶可耐受植物中的多糖多酚; 全血、血清、血浆中的肝素、高浓度的血红蛋白、甘油三脂、乙醇、胍盐、SDS 等强 PCR 抑制剂。
- (2) 长片段扩增能力: 使用该酶可轻松扩增 8kb 的基因组片段, 20kb 的 λ DNA, 8kb 的 cDNA。
- (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。

ZAPA3G DNA 聚合酶对抑制物耐受性:

SDS	0.01%	Serum	15%
Ethanol	5%	Plasma	2%
Heparin	0.1IU/ml	Guanidinium	0.25%
Hematin	30uM	Trizol	0.5%
Blood	15%	Urine	5%

使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

2×ZAPA3G Universal PCR Mix	12.5 µl
上游引物(10 µM)	1 µl
下游引物(10 µM)	1 µl
模板 DNA 或组织材料	X
ddH ₂ O	up to 25 µl

注意: 当扩增片段>5kb 时, 引物用量调整为 0.15-0.5 µl。

25ul 体积建议添加的样品量:

gDNA	1-200ng	Serum	1.25 ul
cDNA	1-200ng	Plasma	0.5 ul
Plant leaves	1mm	Cell	>50
Crude extract of plant	1-2 ul	Tissue	50 ug
Blood	1.25 ul	Urine	1.25 ul
Hair follicle	1-2	Plasmid	0.1-5ng

2. 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。

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

4. 注意事项：(1) 当模板 GC 含量>70%时，请添加 Superbrilliant® 5×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。