

Superbrilliant[®] 第三代 2×ZAPA 多重探针 qPCR 预混液**Superbrilliant[®] 2×ZAPA3G MultiPlex Probe qPCR Mix****Cat. No.: ZS-M13004**

组分:

	ZS-M13004S (100 T×20 µl)	ZS-M13004M (500 T×20 µl)	ZS-M13004L (2000 T×20 µl)
2×ZAPA3G Multiplex Probe qPCR Mix	1 ml	1 ml×5	1 ml×20
说明书	1 份	1 份	1 份

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

简介: 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。

2×ZAPA3G Multiplex Probe qPCR Mix 将热启动 ZAPA3G DNA 聚合酶、反应 Buffer、dNTP 染料等试剂预混在一起, 是一种 2×浓度的单组分预混试剂。该制品不含有 ROX 校正染料, 适用于各种荧光标记探针, 并且适用于各种定量 PCR 机型。优化的反应缓冲液, 使得该制品不仅可用于单重的探针法定量 PCR, 还允许进行多重定量 PCR (MultiPlex qPCR) 检测, 该制品可进行 4 重以上的定量 PCR 检测。

ZAPA3G DNA 聚合酶对抑制物耐受性:

SDS	0.01%	Serum	2%
EtOH	5%	Plasma Citrate	2%
Heparin	0.1IU/ml	Gua SCN	0.25%
Hematin	30uM	Trizol	0.5%

使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

		终浓度
2×ZAPA3G Multiplex Probe qPCR Mix	10 μl	1×
Primer F1 (20 μM)	0.1-0.4 μl	0.1-0.4 μM
Primer R1 (20 μM)	0.1-0.4 μl	0.1-0.4 μM
Probe1 (20 μM)	0.1-0.4 μl	0.1-0.4 μM
其它引物和探针	X	
模板 DNA	0.5~2 μl	
ddH ₂ O	up to 20 μl	

关于引物和探针的使用说明:

(1) 在进行单重 qPCR 检测时, 通常引物和探针用量在 0.2 μl (0.2 μM) 时一般具有较高的效果。

(2) 在进行多重定量 PCR 时, 通常首先进行单重检测, 通过单重检测结果来评估引物和探针的效率、特异性等情况后, 再进行引物、探针组合进行多重检测。

2. 进行 Real-Time PCR 反应, 通常采用两步法, 程序如下:

循环数	温度	时间
热启动	95°C	5 min
40 Cycles	95°C	5 s 变性
	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

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:

循环数	温度	时间	
热启动	95°C	5 min	
40 Cycles	95°C	5 s	变性
	55°C	10 s	退火
	72°C	30 s	延伸

4. 反应结束后确认 Real-Time PCR 的扩增曲线和标准曲线。