

RAPA3G 全能 PCR Mix 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

RAPA3G DNA 聚合酶为经电子重构架的第三代 TaqDNA 聚合酶,第三代 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 RAPA3G 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 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, RAPA3G 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 RAPA HiFi 超保真 DNA 聚合酶, 因此其具有一定的保真性能(经蓝白斑测试, 其保真性能约为 Taq DNA 聚合酶的 56 倍)。
- (6) 热启动, 防止非特异性扩增: RAPA3G 系列产品均采用 HaiGene 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。

RAPA3G DNA 聚合酶对抑制物耐受性

SDS	0.01%	胍盐	0.25%
乙醇	5%	全血	15%
肝素	0.1IU/ml	血清	15%
Trizol	0.5%	血浆	2%
血红素	30 μ M	尿液	5%

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

使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

2×RAPA3G 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
模板 DNA 或组织材料	X
ddH ₂ O	up to 50 μ l

注意: 当扩增片段>5kb 时, 引物用量调整为 0.25-0.5 μ l。

50ul 体积建议添加的样品量

抗凝全血	2.5ul	培养细胞	>100 个
血清	2.5ul	组织	0.1mg
尿液	2.5ul	毛发囊	1-3 个
血浆	1ul	gDNA	1-400ng
植物叶片	2mm	cDNA	1-400ng
植物粗提物	2-4ul	质粒	0.1-10ng

2. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	5min
	95 $^{\circ}$ C	20s
25-40 Cycles	50~60 $^{\circ}$ C	20s
	72 $^{\circ}$ C	4-6kb/min
末延伸	72 $^{\circ}$ C	2min

请注意: (1) 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。(2) 当扩增片段<1kb 时, 延伸时间使用 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。

3. 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。

4. 注意事项: (1) 当模板 GC 含量>70%时, 请添加 5× Q-Solution。(2) 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。