

热启动 mTTx DNA/RNA 聚合酶说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

mTTx DNA/RNA 聚合酶经电子重构架技术，改变了 TTx 的活性配体中心，使其在 Mg^{2+} 条件下仍然具有极强的逆转录活性。mTTx 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，这种独有的特性使得 mTTx 不再受限于反应 Buffer 系统，增加了其应用的拓展性，使得多种类型的实验得以实现，包括：采用单酶进行 TaqMan RT-PCR、在单管相同的 Buffer 系统对 RNA 和 DNA 进行多重检测、超多重的 RNA 模板扩增、RNA 的 NGS 建库、高保真 RT-PCR 扩增等。mTTx DNA/RNA Polymerase 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 TaqMan 探针切割；（4）金属配体离子为 Mg^{2+} ，通常使用浓度 2-3.5mM；（5）相比于 TTx DNA 聚合酶，mTTx 的耐热性能有所下降，92℃ 条件下的半衰期为 30min；（6）热启动版本的 mTTx 在 50℃ 条件下 100% 无活性，92℃ 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。

组分

名称	250U	2500U
HotStart mTTx DNA/RNA Polymerase (5 U/μl)	50 μl	500 μl
5×mTTx Buffer(Mg^{2+} free)	1 ml	1 mlx10
100mM Mg^{2+}	1 ml	1 mlx2

储存: -20℃ 可保存 3 年。

活性定义: 一个活力单位即在在 68° C 条件下，30 分钟内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

反应实例

1. 按以下组分配制 RT-qPCR 反应液

HotStart mTTx DNA/RNA Polymerase (5 U/ μ l)	0.2 μ l
5 $\times$ mTTx Buffer (Mg^{2+} free)	4 μ l
100mM Mg^{2+}	0.5 μ l
dNTP Mixture (10 mM each)	0.2 μ l
上游引物 (10 μ M)	0.4 μ l
下游引物 (10 μ M)	0.4 μ l
荧光探针 (10 μ M)	0.2 μ l
RNA	X μ l
ddH ₂ O	Up to 20 μ l

注意:

- (1) Mg^{2+} 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 0.1-0.8 μ l 直接调整。

2. Direct One-Step RT-qPCR 程序

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

注意: mTTx 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。