



货号: HSTTX-111
保存温度: -20 °C

高效率 RT-PCR 试剂盒

Hot Start TTx (RNA) Kit

本品是使用本公司独家的 TTx DNA Polymerase 酶而开发的 RT-PCR 试剂, 该酶在 Mn²⁺存在条件下具有逆转录活性, 因此可使用 1 酶体系进行 RT-qPCR 反应。相比广泛使用的 Taq DNA Polymerase, 具有更高的扩增效率, 可进行高速 PCR 且可扩增含有 PCR 抑制剂的粗样品。

TTx DNA Polymerase 具有 5'→3' Exonuclease 活性, 所以可用于 TaqMan[®]分析等使用探针法的荧光定量 PCR 中。本试剂使用了高性能热启动抗体, 所以可进行特异性高的 Hot start PCR。

特征

● 可进行高效率的 1 酶体系 · 1-step RT-PCR

TTx DNA Polymerase 具有很高的逆转录活性, 即使微量模板也可高效地进行 RT-PCR。扩增效率高, 短时间的循环条件下也能够高效地扩增。也可用于 DNA 的检测。

● 粗样品扩增能力强

在扩增含有 PCR 抑制剂的粗样品 (生物样品材料、土壤、食品等) 时性能卓越。血液粪便等生物样品无需抽提核酸即可扩增。

1. 组分

产品名称	容量	保存温度
5x Buffer for rTth/ TTx (DNA/ RNA)	1 mL	-20°C
2mM dNTPs	1 mL	-20°C
50mM Mn(OAc) ₂	250 μL	-20°C
Hot Start TTx DNA Polymerase (4U/ μL)	62.5 μL	-20°C

* 进行荧光定量 PCR 时: 本试剂中不含有 Passive Reference 荧光染料 (ROX)。Applied Biosystems 或 Agilent Technologies 公司的仪器等, 为校正孔间荧光强度及分装误差, 使用 Passive Reference 时, 请使用另外的产品 50x ROX reference dye(Code No. ROX-101)。

* 5x Buffer for rTth/ TTx (DNA/ RNA)是含有缓冲液、盐等的 5x浓度的反应液。请试剂中附带的 dNTP、Mn(OAc)₂ 溶液、Hot Start TTx DNA Polymerase、以及模板 DNA 或 RNA、引物、灭菌水等, 制备成 1x浓度的反应液进行使用。

* 2 mM dNTPs 是含有 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 各 2 mM 的溶液。

* 50 mM Mn(OAc)₂ 是反应必需的 Mn²⁺离子。

* Hot Start TTx DNA Polymerase 是含有 TTx DNA Polymerase 与热启动抗体的酶溶液。其浓度为 4U / μL。

※ TaqMan[®]是 Roche Molecular Systems Inc.注册的商标。

2. 安全注意事项

本品为科研用试剂。请勿用于诊断及临床检测。另外，使用本品时，请严格遵守实验室的一般注意事项，务必注意安全。相关实验中，有时可能会处理含有对人体有害的试剂。请严格按照各试剂中附有的注意说明书，仪器·器具中添加的操作说明书的指示进行操作，必要时，请佩戴合适的保护工具进行操作。

3. 反应液的制备

20 μL 反应液的制备例。冻结试剂请完全融解后再使用。反应液制备前，请先将各试剂充分混匀再使用。

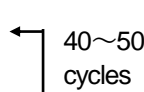
组分	体积	终浓度
5x Buffer for rTth/ TTx (DNA/ RNA)	4 μL	1x
2 mM dNTPs	4 μL	0.4 mM
50 mM Mn(OAc) ₂	1 μL	2.5 mM
PCR Forward Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
PCR Reverse Primer (10 μM)	0.6 μL	0.3 μM
TaqMan [®] Probe (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
Hot Start TTx DNA Polymerase	0.25 μL	1U
Template RNA or DNA (Sample)	X μL	
灭菌水	to 20 μL	

* 全部组分添加之后，请先充分混匀反应液，再放于热循环仪内进行反应。

* 引物的添加量为各引物最终浓度 0.2-0.6 μM 、TaqMan[®]探针的添加量为最终浓度 0.05-0.3 μM ，请按此标准进行添加优化。扩增效率差时，增加添加量可提高扩增性能；但是反之，如果添加量过多，则会产生非特异扩增，会降低检测灵敏度。

4. 反应条件

qPCR 循环实验例。必要时请调整反应条件。

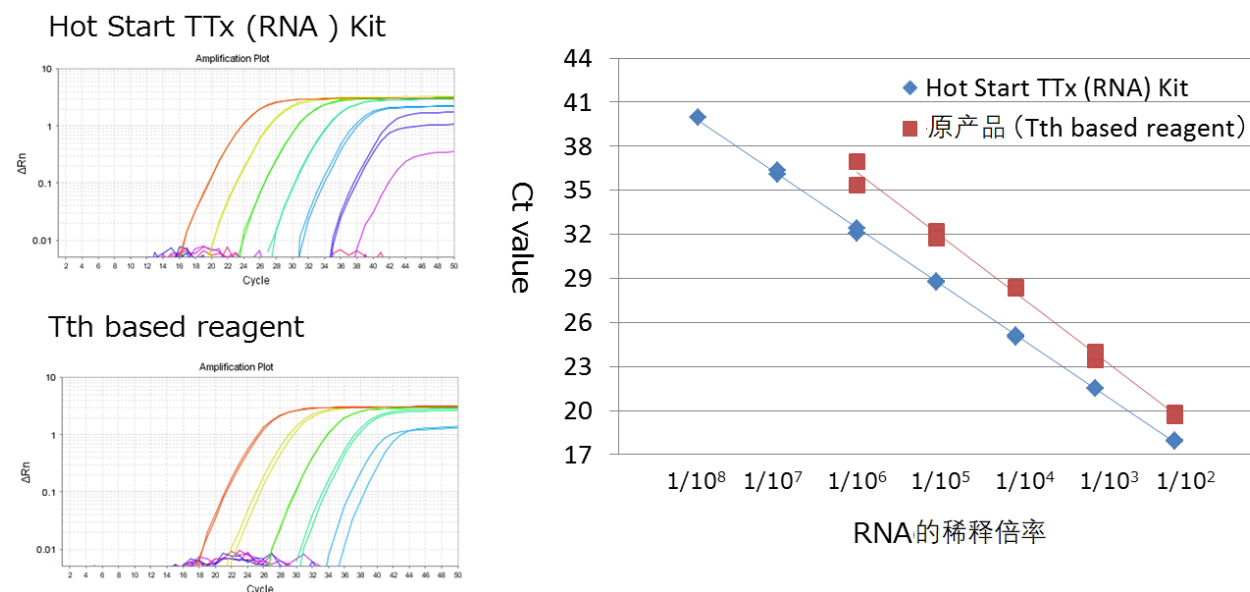
预变性1	95°C, 30 sec.	
逆转录	60°C, 5 min.	
预变性2	95°C, 1 min.	
变性:	95°C, 15 sec.	 40~50 cycles
退火/ 延伸:	60°C, 30 sec	

* 进行 UNG 处理时，请在 Predenature 反应前，设置 UNG 反应步骤。请根据各公司推荐条件进行 UNG 反应。

* Annealing/ Extension 温度，请在 55~65°C 范围内进行优化，可提高灵敏度。

5. 实验例

使用 TaqMan[®]探针, 检测了流感 RNA 病毒。向 20 μ L 的反应液中添加 1 μ L 稀释的提纯 RNA 进行反应。结果显示: 使用本试剂比使用 Tth DNA Polymerase 酶为基础的试剂得到了更高的灵敏度。使用 TTx DNA Polymerase, 即使微量模板也可以进行高效率地检测。



6. 相关产品

产品名称	包装	货号
<高效率 PCR · RT-PCR 酶> Hot Start TTx DNA Polymerase	10,000 U	HSTTX-129
	100,000 U	HSTTX-159
	1,000,000 U	HSTTX-179
<DNA 扩增用 rTth/ TTx 反应 Buffer (含有 Mg ²⁺) > 2x Buffer for rTth / Ttx (DNA)	100 mL	QRZ-1B1
	250 mL	QRZ-1B2
	1,000mL	QRZ-1B4
<Passive Reference> 50x ROX reference dye	5mL	ROX-101
<高效率 PCR · RT-PCR 酶> Hot Start rTth DNA Polymerase	10,000 U	HSTTH-329
<DNA · RNA 扩增用 rTth/ TTx 反应 Buffer (不含 Mg ²⁺ , Mn ²⁺) > 5x Buffer for rTth / Ttx (DNA/ RNA)*	40 mL	QRT-1B1
	400 mL	QRT-1B2
<RNA 扩增用 Mn 离子溶液> 50 mM Mn (OAc) ₂	20 mL	QRT-MN1
<DNA 扩增用 Mg 离子溶液> 25 mM MgCl ₂	40 mL	TAP-2S1

*请与 50 mM Mn (OAc)₂, 或 25 mM MgCl₂ 组合使用。



<销售商>

东洋纺（上海）生物科技有限公司

邮编：200122

邮箱：tech@bio-toyobo.cn

网址：<http://www.bio-toyobo.cn>

联系电话：021-58794900

公司地址：上海市浦东新区张杨路 500 号华润时代广场 28 楼 AL 单元

<生产商>

东洋纺株式会社敦贺生物工厂

地址：日本国福井县敦贺市东洋町 10 番 24 号