

SD 3.0 DNA/RNA 聚合酶 (SD 3.0 DNA/RNA Polymerase) 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

SD 3.0 DNA Polymerase 为具有链置换活性的耐高温 DNA 聚合酶，该酶中包含 ThermoStable V 耐热反转录酶。该酶专用于一步法巢式 TaqMan RT-PCR (TaqManOne-Step Nested RT-PCR)，在搭配 HaiGene 的 P-Bond 荧光探针的情况下可实现高灵敏度的巢式定量 PCR。该酶为热启动版本，仅有在 90°C 加热 5min 后才能恢复 DNA 聚合酶的扩增活性。

组分:

规格	200T
2.5xOne-Step Nested PCR Buffer Mix	1 mlx2
SD 3.0 DNA Polymerase (1.25U/μl)	200 μl

保存条件: 试剂保存到-20°C以下，可保存 2 年。

使用注意:

(1) 2.5xOne-Step Nested PCR Buffer Mix 中包含优化的反应缓冲盐、dNTP (500nM each)、Mg²⁺ (6.25mM)，为 2.5 倍浓度。

(2) SD 3.0 DNA Polymerase 包含 Tris 盐、EDTA 和 25%甘油，内含 SD 2.0 DNA Polymerase (1.25U/μl) 和 ThermoStable V RTnase (20U/μl)。

使用方法:

1. 将合成的 Oligo 及荧光探针稀释到 10 μM 浓度备用。
2. 配制反应体系，进行 4 引物一步槽式法扩增

2.5xOne-Step Nested PCR Buffer Mix	10 μl
SD 3.0 DNA Polymerase	1 μl
内侧扩增引物 F1 (10 μM)	0.5-1 μl
内侧扩增引物 R1 (10 μM)	0.5-1 μl
外侧扩增引物 F2 (10 μM)	0.2 μl
外侧扩增引物 R2 (10 μM)	0.2 μl
荧光探针 (10 μM)	0.1-0.4 μl
检测核酸模板	X μl
总体积	25 μl

注意: 在槽式 PCR 的扩增中，再增加一对外侧引物 (6 引物系统)，将会使 PCR 扩增速度和灵敏度更高，此时引物的特异性将会变得苛刻，否则会造成非特异性扩增。

3. One-Step Nested RT-PCR 程序设置, 根据探针的荧光基团选取正确的荧光通道进行信号收集。

55°C	5 min	
*90°C	5 min	
*90°C	10 s	循环 35-45 次
60°C	30 s (收集信号)	

注意: SD 酶的变性温度为 90°C, 其它温度条件都会导致试剂性能下降。请反复核实, 该参数是否设置正确。