

# 热启动 RAPA3G DNA 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:

Hotstart RAPA3G DNA Polymerase 为第三代 DNA 聚合酶，具有 5' -3' 外切酶活性，不具有 3' -5' 外切酶活性，其具有最高的杂质耐受性（对乙醇、胍盐、肝素具有极高的耐受性），因此对于纯度较差的 DNA 模板，该酶仍然可以获得理想的实验结果。RAPA3G DNA 聚合酶为化学法修饰的 HotStart 版本，其在 50℃ 以下 100% 无活性，只有 95℃ 条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力。因此该系统可以有效抑制非特异性 PCR 扩增，极大的提高了 PCR 扩增特异性和灵敏度。该酶配有独特的反应缓冲液，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。

## 组分

名称	1000U
HotStart RAPA3G DNA Polymerase (10U/μl)	100 μl
5×HotStart RAPA3G Buffer	1 ml×5
100mM Mg <sup>2+</sup>	1 ml

## 注意

- 5×HotStart RAPA3G Buffer 中未添加 Mg<sup>2+</sup>，配制反应时应加入适当浓度的 Mg<sup>2+</sup>，推荐反应终浓度为 2.5mM。
- HotStart RAPA3G DNA Polymerase (10U/μl) 中含有 40% 浓度甘油，使用时应小心吸取。

## 活性定义

一个活力单位即在在 74℃ 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。

## 储存

请避光置于 -20℃ 以下可保存 3 年，该试剂经 30 次冻融后性能无下降，因此不使用时请置于 -20℃ 避光保存。

使用说明：

1. 按照如下组分配制 50  $\mu$ l PCR 反应体系:

5 $\times$ HotStart RAPA3G Buffer	10 $\mu$ l
HotStart RAPA3G DNA Polymerase (10U/ $\mu$ l)	0.25 $\mu$ l
dNTP Mixture (10 mM each)	0.5 $\mu$ l
100mM Mg <sup>2+</sup>	1.25 $\mu$ l
PCR Forward Primer(10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
PCR Reverse Primer(10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
DNA 模板	X $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	Up to 50 $\mu$ l

**注意:**

(1) 在 50  $\mu$ l 的 PCR 反应体系中 HotStart RAPA3GDNA Polymerase 的用量可在 0.1-0.5  $\mu$ l 进行调整。(2) Mg<sup>2+</sup>的浓度通常在 2-4 mM 时可获得理想的扩增结果。

2. qPCR 扩增程序用两步法:

Stage 1:	95 $^{\circ}$ C	5min	
Stage 2:	95 $^{\circ}$ C	10s	
	60 $^{\circ}$ C	30s	25-40 cycles

**注意:** 由于该酶为化学修饰的热启动 RAPA3G DNA 聚合酶, 必须于 95 $^{\circ}$ C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 该热启动步骤不能缩短时间。

3. 常规 PCR 三步法程序:

Stage 1:	95 $^{\circ}$ C	5min	
Stage 2:	95 $^{\circ}$ C	10s	
	50-60 $^{\circ}$ C (退火)	20s	
	72 $^{\circ}$ C	4kb/min	25-40 cycles
Stage 3:	72 $^{\circ}$ C	5min	

**注意:** 由于该酶为化学修饰的热启动 RAPA3G DNA 聚合酶, 必须于 95 $^{\circ}$ C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 该热启动步骤不能缩短时间。