

**描述:** 3GmTTx 冻干球, 其包含化学封闭热启动 3GTaq DNA 聚合酶和极度耐热逆转录酶(Extreme ThermoStable Reverse Transcriptase, ET RTase)、热敏 UDG 酶、dA/C/G/UTP(不含 dTTP)、Mg<sup>2+</sup>与其它稳定剂。该制品仅在 Mg<sup>2+</sup>条件下, 即可对于 DNA 和 RNA 进行无偏差扩增。可以高灵敏的检测 DNA 和 RNA 分子。得益于耐受 95°C 高温的 ET RTase, 无论是 DNA 或 RNA 病毒, 均可通过**加热反应来释放样本中的核酸分子**, 并用于后续 PCR 扩增。因此, **粗制样本该试剂可以直接进行检测, 无需核酸纯化**。

试剂特性: (1) 3GTaq 和 ET RTase 均为化学修饰 (<50°C 完全无活性), 仅有 95°C 加热 5min 后才能恢复活性; (2) ET RTase 在 95°C 加热 5min 后仍然保留全部活性, 在反应进程中就可完成逆转录, 因此无需逆转录步骤。该酶通过修改 TTx 酶配体中心, 使其逆转录活性, 由 Mn<sup>2+</sup>依赖变为 Mg<sup>2+</sup>, 这种变化使得 RT-PCR 得一同步化。(3) TTx 聚合酶活性中心的修改, 导致其 5'-3'外切酶活性下降。因此, 3GTaq 酶提供额外的 Flap5'-3'外切酶活性来切割 TaqMan 探针。(4) 以 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增的最大长度为 500bp, 扩增效率最高的长度为 70-150bp。(5) 制品不含 dTTP, 且包含热敏 UDG, 可有效的防止气溶胶引起的污染。

## 组分

| 名称                    | 96Tx20µl | 480Tx20µl |
|-----------------------|----------|-----------|
| 3GmTTx Bead(with UDG) | 96 个/瓶   | 96 个/瓶 x5 |

## 注意事项:

- 冻干制品未溶解状态下: 37°C 下运输 (1 个月有效), 25°C 室温 (1 年有效), 长期保存请置于-20°C 以下 (5 年有效)。
- 每球含有 0.5U 的 3GTaq, 0.4pmol 的 ET RTase, 0.1U 的热敏 UDG 酶。
- 每球的反应体积为 20µl, 直径 2.4mm。其它体积和规格的冻干球, 可从 HaiGene 订制。
- 3GTaq 和 ET RTase 均为化学修饰的热启动酶, 必须于 95°C 加热 5min 才能恢复酶的活性, 不能随意缩短时间。

## 操作方法

### 1.按照如下组分配制 20 µl PCR 反应体系

|                          | 1x浓度          |
|--------------------------|---------------|
| 3GmTTx Bead              | 1 个           |
| Primer F1 (10 µM)        | 0.8 µl 400 nM |
| Primer R1 (10 µM)        | 0.8 µl 400 nM |
| Probe1 (10 µM)           | 0.4 µl 200 nM |
| 其它引物和探针                  | x µl          |
| 模板 DNA/RNA               | 10 ng         |
| ddH <sub>2</sub> O Up to | 20 µl         |

反应体系配制完毕后, 可于室温放置 2~5min, 以消化潜在的污染物, 再置于 PCR 仪上进行后续反应。

### 2. 纯化 DNA/RNA 或者粗样本 qPCR 反应程序:

| Stage 1 | 95°C    | 5 min | 必须步骤 | 热启动   |
|---------|---------|-------|------|-------|
| Stage 2 | 95°C    | 10 s  |      |       |
| 循环 40 次 | 55-65°C | 30 s  | 收集信号 | 退火/延伸 |