

【产品简介】

TOROIVD® 5G DNA polymerase (GB buffer)是基于 Tth DNA 聚合酶和 Taq DNA 聚合酶经“人工进化”改造的一款多功能聚合酶。是一款采用抗体法修饰的热启动酶。

【产品特征】

1. 增强的 DNA 聚合酶活性，具有高速 PCR 酶功能，可对 DNA 样品进行高速 qPCR 或 PCR 检测。
2. 更高的 5'→3'核酸外切酶活性，高效切割 TaqMan®等双标记水解探针，具有更高的荧光信号值，适合体外诊断用途。
3. 在 Mn^{2+} 作用下的高温逆转录活性特性，仅单酶可实现 One Step RT-qPCR，相对于使用 MMLV-Taq 的双酶一步法，降低成本，利于质控，提高稳定性等优势。
4. 混合了热启动抗体，可以实现快速热启动进行高特异及高灵敏的 PCR 扩增。
5. 具有很强的抗抑制能力，可对全血、血清、细胞及组织等样品进行直接扩增，或用扩增 Buffer 裂解后进行直接 PCR。

【产品组成】

TOROIVD® 5G DNA polymerase (GB buffer)采用 20μL 反应体系可使用 200 次。

货号	组分	规格	数量
MFP-207	TOROIVD® 5G DNA Polymerase	50μL/管	1 管
	2×5G qPCR Buffer GB	1.25mL/管	2 管

备注:

1. 2×5G qPCR Buffer GB 包含 0.4mM dA/C/G/T/UTP，5mM Mg^{2+} ，PCR 反应缓冲液及稳定剂。
2. 工业客户可以根据实际情况订制大包装的单独成分。

【储存条件】

1. 试剂盒-20℃冷冻保存，有效期 24 个月。运输过程中，温度应为-15℃到-25℃的冷链或干冰。
2. 试剂开封后，置于 4℃条件下保质期为 60 天。
3. 2×5G qPCR Buffer GB 请室温完全融化后使用，否则会降低使用效果。

【引物探针设计】

-引物设计

引物长度：18-25bp。Tm 值：60-65℃。GC 含量：40-60%。扩增子长度：70-200 bp。纯化级别：HPLC 级。

-探针设计

探针设计：20-30bp。Tm 值：65-70℃。GC 含量：40-60%。纯化级别：HPLC 级。

-引物探针验证:

对模板进行 5-8 个梯度的 10 倍稀释，采用新设计引物探针制作标准曲线。确认 PCR 扩增效率在 90% -110% 范围内，且 R^2 值大于等于 0.99。如果不在以上范围内，循环条件需进行调整优化。如果不能改善结果，要重新设计引物和探针。

【操作流程】

1. 该试剂盒在使用前应完全解冻。斡旋混匀，并短暂离心。

2. 纯化或粗模板 DNA 可以直接使用或稀释后使用。
3. 在薄壁 qPCR 管或板中制备以下反应混合物。

组分	20μL 体系添加量
2×5G qPCR Buffer GB	10μL
TOROIVD® 5G DNA Polymerase	0.25μL
10μM 正向引物	1μL
10μM 反向引物	1μL
10μM TaqMan® 探针	0.4μL
Template DNA solution	5μL
ddH ₂ O	补足 20ul

4. 轻轻混合反应溶液，在微离心机中向下旋转。

注意：

1. 对于未经提取的粗样品模板 DNA，氯化镁浓度可能需要优化调整，推荐最终浓度为 2.5-8mM。可能需要添加 BSA 和 TritonX-100 来提高粗样品裂解能力。
2. 引物浓度应在 0.2-0.8μM 之间优化，TaqMan®探针应在 0.1-0.4μM 之间优化。

【循环条件】

推荐的 2 步法 PCR 方案描述如下所述：

步骤		温度	时间	循环数
1	预变性	95℃	1min	1
2	变性	95℃	10 sec	40-45
	退火/延伸（采集荧光）	60℃	20 sec	

注意：

1. 首先使用本方案，必要时优化 PCR 条件。当引物探针 T_m 值较低时，或当 2 步法 PCR 不可行时，使用 3 步法 PCR 扩增。
2. 预变性温度可优化 95-98℃，时间在 2min-5min 之间。
3. 变性温度可以优化 95-98℃，时间在 3 sec-10 sec 之间。
4. 延长/退火温度可优化 60-65℃，时间在 5 sec-30 sec 之间。在此步骤中应设置荧光信号采集。



天筛（上海）科技有限公司

网址: www.toroivd.com

电话: 400-688-2055

邮箱: market@toroivd.com

更多科研产品，请关注天筛优品微信小程序

