天净沙系列

CAT#:240321

低温运输，-20℃保存

Taq DNA 聚合酶探针法筛选试剂盒 铵体系

Taq DNA Polymerase Activity Probe Screening Kit NH4 Buffer

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是基于硫酸铵 PCR 体系的 Taq DNA 聚合酶活性筛选试剂盒，用于快速比较各种 Taq DNA 聚合酶突变体的活性。本产品具有下列特点：

1. 即开即用，用户只需要提供待测 Taq DNA 聚合酶。
2. 预混液整合了所有成份，均不需要单独添加，极大地减少了操作误差。
3. 可用于筛选 Taq DNA 聚合酶活性，也可用于筛查其抑制剂或促效剂。
4. 含 Taq DNA 聚合酶阳性对照，便于在实验异常时分析原因。
5. 本产品基于硫酸铵 PCR 体系。如果需要氯化钾 PCR 体系，需另购。
6. 基于 TaqMan 探针法，故待测 Taq DNA 聚合酶需要有 5-3 核酸外切酶活性。如果没有此活性，需要用另一款产品（染料法筛查试剂盒）。
7. 本产品足够 50 次 20 μL 体系的探针法 qPCR 反应。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
2×Taq 筛选探针法 MasterMix	240321a	0.5 mL	0.5 mL 本色管
阳性对照	240321b	20 μL	0.5 mL 红盖管
超纯水	210806	1 mL	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	240321sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。

自备试剂

待测 Taq DNA 聚合酶，超纯水。

使用方法

一、样品制备

1. 用自选方式制备待测 Taq DNA 聚合酶样本，记录下其总体积 V mL 便于后续计算酶比活性。

二、qPCR 反应（20 μL 体系）

2. 如果有 N 个待测样本，每个做 1 次重复，则标记 N + 2 个 PCR 反应管，其中 N 个管用于 N 个待测样本，多出的 2 个管分别用于阴性对照和阳性对照。如果要测试抑制剂或促效剂，可以使用超纯水的预留体积。按下表加入各成分：

成分	N 个样本管	阴性对照	阳性对照
2×Taq 筛选探针法 MasterMix	各 10 μL	10 μL	10 μL
超纯水	各 9 μL	10 μL	9 μL
阳性对照	不加	不加	1 μL

N 个待测样本	各 1 μL	不加	不加

3. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 qPCR:

过程	温度	时间
预变性	95℃	5 min.
PCR 反应 （45 个循环）	95℃	15 sec.
	52℃	15 sec.
	72℃	30 sec（采集 FAM 通道的荧光信号，淬灭基团为 TAMRA）

三、数据处理

4. 实验有效性判断：如果阳性对照有标准的倒 S 扩增曲线，Ct 值不超过 25；阴性对照无 Ct 值，或 Ct 超过 35，则实验有效，可以分析待测样本的数据。如果阳性对照没有有标准的倒 S 扩增曲线，Ct 值超过 25，说明试剂、仪器或操作有问题，则整个实验也无效。如果阴性对照有小于 35 的 Ct 值，说明试剂或环境有污染，则整个实验无效。实验无效时，需要先找到原因后再继续实验。

5. 比较 N 个样本的 Ct 值，Ct 越低说明扩增效果越好，DNA 聚合酶活性越高。

关联产品	Taq DNA 聚合酶染料法筛选试剂盒，铵体系