



为您带来创新和生产力的 商业供应伙伴

PCR、qPCR和逆转录反应所用OEM试剂选择指南

ThermoFisher
SCIENTIFIC

以创新和质量支持您的创意

二十多年来，我们一直致力于提供创新性耐热DNA聚合酶和逆转录酶(RT)，提供PCR、qPCR和RT实验应用所需的高灵敏度、反应速度和可重复性。我们产品所具有的独特性能、质量和可靠性，可助您成功开发基于核酸分析的产品及其商业化，为您的产品带来最高的准确性、可重复性和有效性。

利用我们酶所具有的独特能力来推动您的创新性解决方案

- 在酶和核苷酸开发和生产领域拥有逾40年的专业经验
- 行业领先且值得信赖的品牌，如Invitrogen™ Super Script™和Platinum™酶系列
- 高性能的新一代酶，源于体外蛋白进化技术提供可冻干的酶制剂，不含甘油，可进行冻干相容性分析
- qPCR级的dNTP，提供大部分高要求实验所需的可靠性提供定制功能测试，完全按照您的实验要求
- 高批次间一致性
- 提供样本用于测试和验证

综合质量管理体系是我们业务的核心

- 经过ISO 9001和ISO 13485认证的设备
- 在符合100,000 (ISO 8, D级)洁净室标准的工厂进行生产和产品灌装
- 覆盖供应链、生产和质量控制过程的完整质量管理体系
- 原材料和供应商经资格认证，以确保供应的一致性
- 严格的文档记录、完整的可追溯性和过程控制
- 遵循全方位的标准操作规范(SOP)
- 监测控制过程，以确保产品的稳定性、合规性和一致性
- 执行投诉管理及纠正和预防措施体系
- 对客户访问及审核持开放态度



值得信赖且灵活的合作伙伴

我们与客户建立了全方位的合作伙伴关系，从产品开发策略到生产规模扩大均可提供高质量的产品和定制支持服务。通过始终坚持最佳实践、采用新方法和特别关注个性化需求，我们与客户建立起牢固的供应链。不论您是一家大型公司还是初创企业，我们都可以为您提供高质量的试剂以及安全工作的严格过程控制，使您能够更快速地将突破性产品推向市场，且风险更低。

我们提供长期供应保证

- 以极佳的声誉、财务稳定性和全球供应能力，在全世界范围内获得认可
- 商业供应和许可协议 — 保证了长期的合作关系
- 通过应急计划、风险管理和拥有多家生产工厂，可实现业务连续性
- 与我们产品系列中的多种产品实现无缝整合和兼容
- 安全且高效的产品交付
 - 冷链管理 — 有助于确保产品质量和性能
 - 直接运送至客户 — 有助于缩短交货时间，加快上市速度
 - 温控集装箱 — 有助于防止产品受损

提供定制解决方案满足您的应用和规格要求，加速您的产品推向市场

- 全方位的开发和定制能力 — 定制的产品配方、配置和质量控制
- 满足任意规模和形式的产品供应 — 从散装形式到成品
- 拥有定制产品标签和产品包装能力，提供外包装 — 从特殊的瓶口要求到包装盒设计

我们不仅仅是您的供应商，更是您的合作伙伴

- 在OEM和商业供应业务领域拥有逾25年的经验
- 拥有专门的专业团队支持您的项目，为您提供一流的客户服务和支持
- 严格遵循保密义务



让我们成为您团队的一部分：
请登录 thermofisher.com/oem-partner，
联系我们的许可和商业供应专员



在DNA扩增方面的卓越可靠性

增强型耐热DNA聚合酶，适合qPCR和PCR应用领域

我们致力于提供可满足客户最高要求的PCR酶。我们在酶学和体外进化领域的知识积累和专业技术使我们能够开发出具有全新或改进性能的酶。我们的客户可从一系列的DNA聚合酶中进行选择，这些聚合酶均基于热启动技术、扩增速度、抗PCR抑制剂能力或冻干相容性的组合。我们所提供酶的高性能、批次间一致性和广泛的质量控制测试使得您能够开发出具有最高灵敏度、准确性和可重复性的PCR和qPCR分析产品。

优点

- 高灵敏度和高特异性，可用于检测低拷贝数的目标DNA
- 最短的激活时间，使得从样本到获得结果的时间更短
- 实现难扩增目标片段的强劲扩增，包括纯度不佳的靶点
- 可提供冻干相容性验证方案



表1. DNA聚合酶选择指南。

特性	Platinum Taq DNA聚合酶, 抗抑制剂	Platinum Taq DNA聚合酶	AmpliTaq Gold DNA聚合酶	LibertyTaq DNA聚合酶	野生型Taq DNA聚合酶	Phire热启动II DNA聚合酶
热启动PCR	基于抗体	基于抗体	化学修饰	独有专利	否	基于亲合配体
TaqMan探针兼容性	是	是	是	是	是	否
激活时间	2分钟	2分钟	10分钟	0分钟	0分钟	0分钟
延伸速度	15–30秒/kb	30–60秒/kb	30–60秒/kb	30–60秒/kb	30–60秒/kb	10–15秒/kb
灵敏度	+++	+++	+++	+	+	+
特异性	+++	+++	+++	+	+	++
抗抑制剂能力	+++	+	+	+	+	+++
冻干制剂*	按需提供	是	按需提供	是	是	是

* 冻干制剂是适用于冻干的酶组分，不含甘油。
注：“+” =较差；“++” = 中等；“+++” =推荐选择。

精选 *Taq* DNA聚合酶

Platinum *Taq* DNA聚合酶，抗抑制剂

Invitrogen™ Platinum™ *Taq* DNA聚合酶源于体外进化，从而可开发出特有的产品特征，如更高的抗抑制剂能力和增强的扩增速度。这些属性特征结合热启动特性，为DNA和RNA分析设计提供了新的可能。

- **抗抑制剂能力** — 可靠地扩增困难样本
- **快速扩增** — PCR循环时间缩短，节省了时间(图1)
- **严格的热启动技术** — 高特异性、高灵敏度和高产量

Platinum *Taq* DNA聚合酶

- **严格的热启动技术** — 高特异性和高灵敏度，可获得出众的结果(图2)
- **不同GC含量的低复杂度和高复杂度DNA的强劲扩增** — 可从任意类型的模板DNA获得准确且可靠的结果
- **人和大肠杆菌DNA污染控制** — 有助于最大程度地减少潜在的假阳性结果

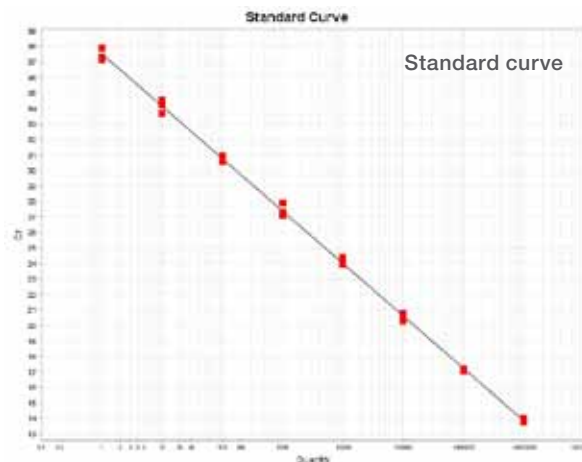
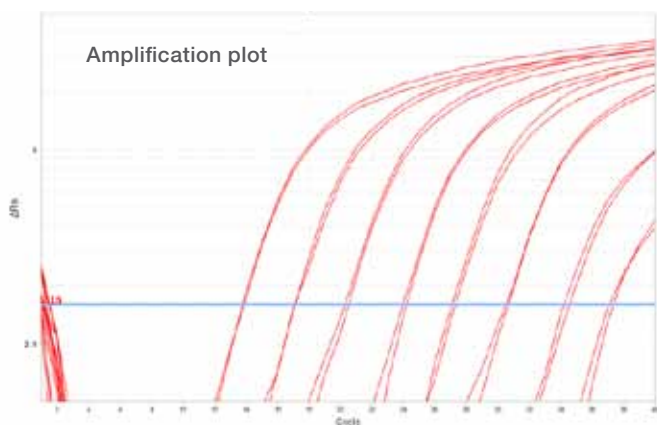


图1. 使用抗抑制剂的Invitrogen™ Platinum™ *Taq* DNA聚合酶实现快速且灵敏的一步法RT-qPCR。在一步法RT-qPCR中，使用Thermo Scientific™ Maxima™逆转录酶(RT)和抗抑制剂的Platinum *Taq* DNA聚合酶扩增GAPDH RNA (1 x 10⁷至1拷贝)。使用快速循环条件扩增GAPDH靶点：50°C，15分钟(RT反应)；95°C，3分钟(RT灭活)；然后扩增40个循环(1个循环 — 60°C，15秒)。

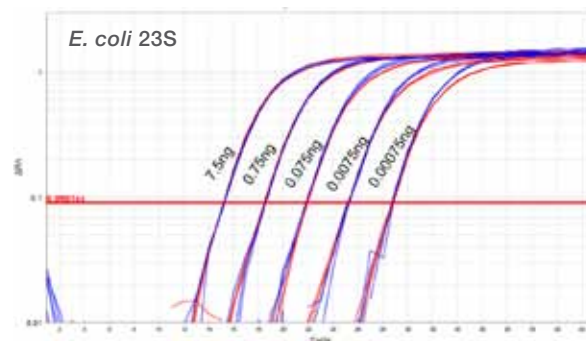
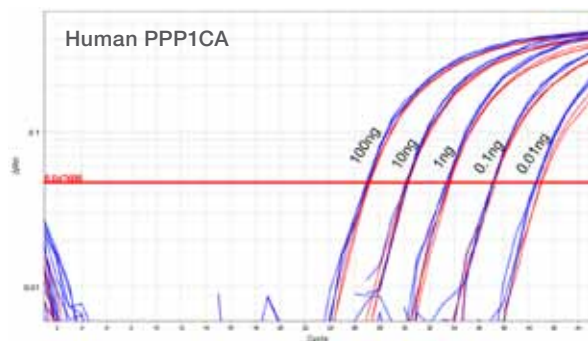


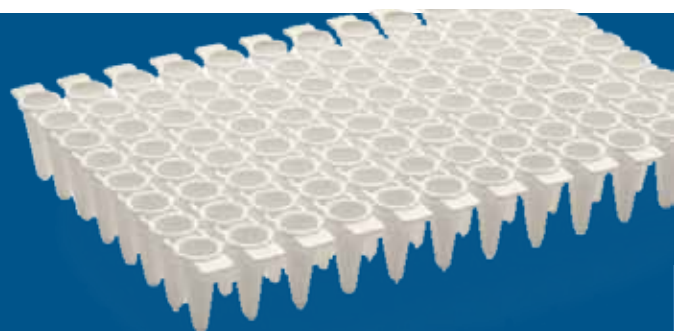
图2. 灵敏、可重复且特异性的qPCR分析。针对人PPP1CA和**大肠杆菌**23S核糖体RNA (rRNA) 基因，使用Applied Biosystems™ TaqMan™ Assay以及不同的人或**大肠杆菌**起始基因组DNA (gDNA)模板量，来评估Invitrogen™ LibertyTaq™ (蓝色曲线)和Platinum Taq(红色曲线)DNA聚合酶的性能。两种DNA聚合酶均可实现同样高效且灵敏的扩增。在无模板对照中未观察到扩增，证明配方中不含污染的人和**大肠杆菌**DNA。



您知道吗？

在qPCR应用中推荐使用白色的塑料制品，这可以防止试管的光线折射，提高信噪比，从而实现灵敏且准确的荧光检测。

更多信息，请登录 thermofisher.com/oemplastics



质量控制

定制的质量测试可以确保DNA聚合酶在您的基于DNA/RNA分析中具有高性能。

参数*	使用方法
单位浓度	在所选时间间隔内，利用酶将放射性标记的dNTP掺入多核苷酸中
核酸内切酶和核酸外切酶	将放射性标记的、单链和双链寡核苷酸与酶一起孵育
核糖核酸酶	将放射性标记的RNA转录物与酶一起孵育
残留活性分析	利用酶对标记的双链寡核苷酸进行延伸，无需热激活
功能测试	定量PCR，含五个数量级的10倍稀释度的人和 大肠杆菌 gDNA
人类gDNA	定量PCR测试，利用所选人gDNA片段的扩增
大肠杆菌 gDNA	定量PCR测试，利用 大肠杆菌 23S rRNA基因片段的扩增

* 标准质量控制程序的范围因酶的不同而异。Applied Biosystems™ AmpliTaq Gold™ DNA聚合酶的质量控制方法不同于上述方法。

选择高保真实验应用的金标准

校正DNA聚合酶

Invitrogen™和Thermo Scientific™高保真DNA聚合酶设计用于强劲和高保真地扩增DNA片段，高准确性且快速地获得PCR产物，即便是对于最难以处理的模板。从我们提供的各种高保真酶中进行选择，其形式、缓冲液和dNTP溶液取决于您基于DNA分析检测的复杂性和您的灵活性需要。

优点

- 市场上最高的保真度(>100x Taq聚合酶)
- 对多种目的片段均可进行强劲地扩增
- 对PCR抑制剂的耐受性极佳
- 循环时间更短，可以更快速地从样本中获得结果
- 高产量，反应无需优化
- 最大程度地降低非特异性扩增
- 以单独的酶或预混液形式提供



表2. 高保真DNA聚合酶选择指南。

特性	Platinum SuperFi DNA聚合酶	Phusion热启动II高保真DNA聚合酶	Phusion U热启动DNA聚合酶	Phusion高保真DNA聚合酶
保真度(与Taq聚合酶相比)	>100x	52x	25x	52x
热启动PCR	基于抗体	基于亲合体	基于亲合体	否
扩增片段长度	≤20 kb	≤20 kb	≤20 kb	≤20 kb
延伸率	15–30秒/kb	15–30秒/kb	15–30秒/kb	15–30秒/kb
TaqMan探针兼容性	否	否	否	否
抗抑制剂能力	++++	+++	++	++
dUTP耐受性	否	否	是	否
多重PCR	是	是	是	否
冻干制剂*	按需提供	是	按需提供	按需提供

* 冻干制剂是适用于低压冻干的酶组分，甘油含量低 (<1%)。
注：“++”=中等；“+++”=推荐选择；“++++”=出众。

精选高保真DNA聚合酶

Platinum SuperFi DNA聚合酶

Invitrogen™ Platinum™ SuperFi™ DNA聚合酶将最高保真度与值得信赖的Platinum™热启动技术相结合，助您成功进行PCR。Platinum SuperFi DNA聚合酶的保真度超过*Taq*酶100倍以上，极其适用于需要极高序列准确度的实验应用。

- 极高的保真度
- 利用Platinum热启动技术获得更高特异性和更高的产量
- 可强劲扩增宽范围的目的片段，可抵抗常见的PCR抑制剂
- 便捷的实验流程，可在室温下配制反应体系

高保真度

Platinum SuperFi DNA聚合酶在保持DNA序列准确性方面提供了最高的可信度，错误率极低(保真度超过*Taq*聚合酶100倍以上，如图3所示)。

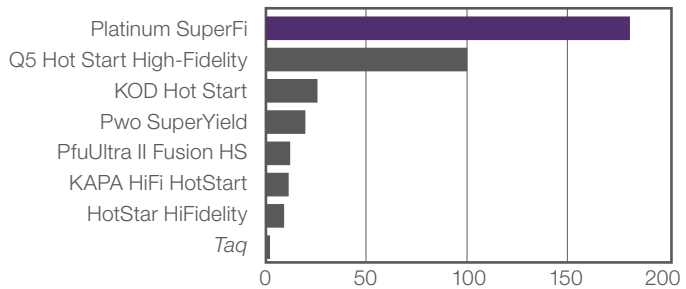


图3. 不同DNA聚合酶的相对保真度值。采用新一代测序检测DNA聚合酶保真度。利用非PCR文库测序数据估算实验错误的背景水平。聚合酶的保真度衡量以*Taq*聚合酶作为基准。由于极低的错误率来源于背景水平，因此难以测定超过100倍*Taq*聚合酶的统计上显著的保真度值。

抗抑制剂能力

Platinum SuperFi DNA聚合酶经设计带有DNA结合结构域，因此具有很高的持续合成能力，提高了对常见PCR抑制剂的耐受力，如肝素、木聚糖和腐植酸(图4)。



图4. 抗抑制剂能力。使用Platinum SuperFi DNA聚合酶或其他供应商的高保真DNA聚合酶(A-D)扩增2 kb人类gDNA片段，反应混合物包含1 =无抑制剂、2 =肝素(0.15 µg/µL)、3 =木聚糖(0.5 µg/µL)或4 =腐植酸(0.5 ng/µL)。



Thermo Scientific™ Phusion™高保真DNA聚合酶自2003年推出以来，为高保真PCR领域建立了新的性能标准。在过去十年中，我们的高保真DNA聚合酶已被证明可用于高要求的PCR应用领域，包括首个功能合成基因组的诞生。

Phusion DNA聚合酶采用独特的融合技术，将类*Pyrococcus*校正DNA聚合酶与一个DNA结合蛋白融合，可高准确性且快速的获得PCR产物。此外，Phusion DNA聚合酶可以耐受多种抑制剂——几乎无需优化即可实现强劲的PCR产物扩增。

Phusion热启动II高保真DNA聚合酶

Thermo Scientific™ Phusion™热启动II高保真DNA聚合酶将热启动与高保真PCR相结合，可提供更高特异性和更高的稳定性(图5)。

- 高保真度(保真度较*Taq*聚合酶高52倍，准确度较*Pfu*聚合酶高6倍)
- 增强的持续合成能力可以缩短反应时间
- 只需使用极少的酶即可获得极佳的产量
- 采用独特的基于亲合配体的热启动技术，可瞬时激活，获得更高的特异性



图5. 使用Phusion热启动II高保真DNA聚合酶对血液样本进行直接PCR扩增。Phusion热启动II高保真DNA聚合酶是Thermo Scientific™ Phusion™血液直接PCR试剂盒的一部分，将其与用于针对血液样本进行直接PCR的其它同类试剂盒进行比较。逐步提高反应混合物中的血液浓度，扩增588 bp的基因组DNA片段。参照供应商的使用说明进行PCR。在底部显示总实验时间。阳性和阴性对照反应分别用“+”和“-”表示。



Phusion U热启动DNA聚合酶

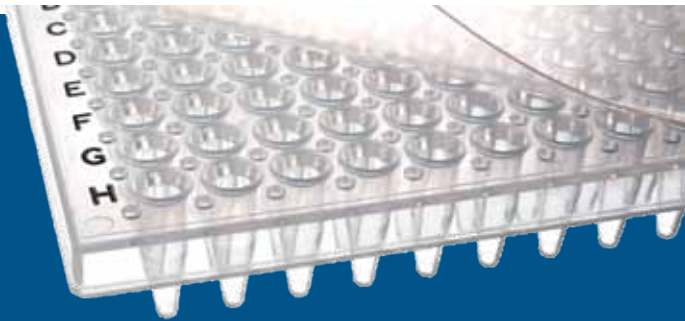
Thermo Scientific™ Phusion™ U热启动DNA聚合酶是适用于耐尿嘧啶的PCR的高保真DNA聚合酶。Phusion U热启动DNA聚合酶在Phusion酶的dUTP结合域处携带突变，可耐受DNA模板中的尿嘧啶，且能够整合引入dUTP。

- 适用于耐尿嘧啶PCR的高保真聚合酶
- 高准确度(保真度较*Taq*聚合酶高25倍)
- 高持续合成能力可以缩短反应时间
- 适用于需要控制残留污染的PCR分析



您知道吗？

我们可提供适用于Applied Biosystems™热循环仪和实时荧光定量PCR仪等多种仪器的现货塑料制品：PCR管、联排管、24孔至384孔PCR反应板及各种封板膜。
更多信息，请登录 thermofisher.com/oemplastics



质量控制

使用大量的质量测试确保高保真DNA聚合酶的质量。

参数*	使用方法
单位浓度	一个单位的酶可在74°C条件下30分钟整合引入10 nmol的dNTP
核酸内切酶(缺口活性)	在超螺旋质粒DNA中加入10 U的酶, 37°C孵育4小时, 在琼脂糖凝胶上进行分析
残留活性分析	在dNTP存在的条件下, 37°C孵育4小时, 对带有5'-突出端标记的双链寡核苷酸进行延伸
PCR功能测试	对人类gDNA中的7.5 kb片段进行PCR扩增, 对lambda DNA中的20 kb片段进行PCR扩增, 在琼脂糖凝胶上进行分析
人类gDNA	利用人类gDNA中的Alu重复片段扩增, 对从酶纯化的DNA进行定量PCR测试

* 标准质量控制程序的范围因酶的不同而异。

出众的cDNA合成性能

适用于RT-PCR和RT-qPCR应用的逆转录酶

我们提供了品种齐全的逆转录酶系列，从野生型莫洛尼鼠白血病病毒(M-MuLV) RT到具有出众特性(如更高的灵敏度和更短的反应时间)的Invitrogen™ SuperScript™ RT系列。利用我们专利的体外蛋白质进化技术可以在传统的M-MuLV逆转录酶中引入多种突变。这极大地提升了酶的热稳定性、对抑制剂的抵抗作用及持续合成能力。我们的RT酶还可提供可低压冻干的配方(无甘油；可用于低压冻干)，提高了开发基于RT-qPCR的分析的灵活性。

优点

- 针对难以处理的样本可获得稳定的性能
- 更高的热稳定性和持续合成能力
- 即便在有抑制剂存在的情况下，亦可获得高效率和高灵敏度
- 宿主细胞DNA残留量低，几乎无假阳性结果
- 可低压冻干的配方，适用于低压冻干



表3. 逆转录酶选择表。

特性	SuperScript IV RT	SuperScript III RT	Maxima RT	RevertAid RT (M-MuLV)
最佳反应温度	50°C	50°C	50°C	42°C
RNase H活性	无	无	有	有
提供不含RNase H的版本	NA	NA	Maxima H Minus RT	RevertAid H Minus RT
反应时间	10分钟	50分钟	30分钟	60分钟
抵抗抑制剂作用	++++	+	+++	+
灵敏度	++++	+++	+++	++
可低压冻干*	是	是	是	是

* 可低压冻干是适用于低压冻干的酶组分，不含甘油。
注：“+”=较差；“++”=中等；“+++”=良好；“++++”=推荐选择。

特色逆转录酶

SuperScript IV逆转录酶

Invitrogen™ SuperScript™ IV RT是一种M-MuLV RT突变体，可提供出众的cDNA合成稳定性和可靠性(图6)。该RT酶具有很强的抑制剂抗性、高持续合成能力、热稳定性、高效的全长cDNA合成能力以及较低的RNaseH活性。

SuperScript IV RT能够在常见PCR反应抑制剂存在的条件下(尤其在未提供最佳质量的临床或环境样本的情况下)，实现可靠的cDNA合成。

- 针对各种基因靶点提供稳定的cDNA合成，包括降解RNA和纯度不佳的RNA样本
- 10分钟反应实现高灵敏度和高线性度
- 在较宽的起始RNA范围内具有线性动态范围，这是低丰度样本检测的关键

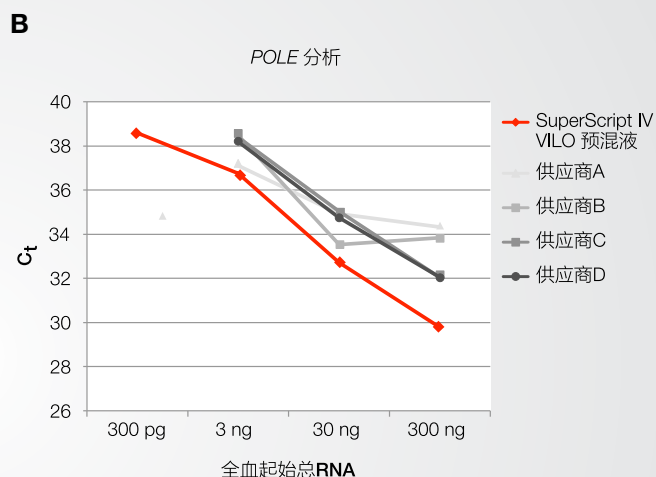
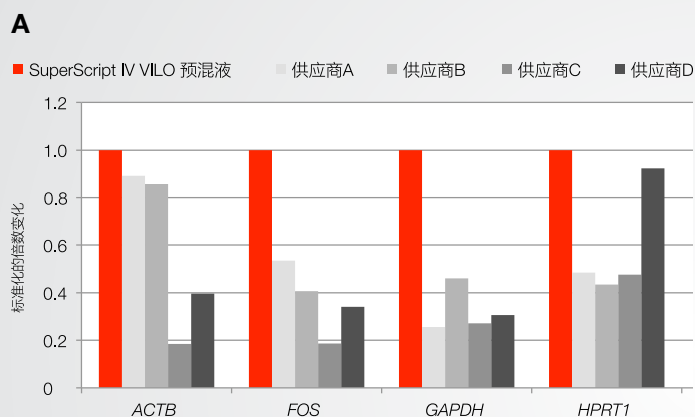


图6. 使用SuperScript IV RT处理全血RNA，可提供更高灵敏度的靶点检测。在RT-qPCR中，使用SuperScript IV和其他4种RT (供应商A、B、C和D)处理1 ng部分降解的(RIN 4–6)血液RNA **(A)**或连续稀释的总全血RNA **(B)**。**(A)**结果显示为标准化SuperScript IV RT的倍数变化，计算方法是 $2^{(C_t \text{ SuperScript IV} - C_t \text{ 其他产品})}$ 。

SuperScript IV逆转录酶

Invitrogen™ SuperScript™ III RT应用广泛且已被数千篇文献引证，可提供较野生型M-MuLV RT酶更高的cDNA产量和灵敏度。

- 较高的热稳定性，可减少RNA二级结构
- RNA酶H活性更低，可提供长RNA转录本
- 稳定的酶，在50°C下半衰期达220分钟

Maxima逆转录酶

Thermo Scientific™ Maxima™逆转录酶和Maxima™ H Minus逆转录酶来源于体外进化，它们具有独特的属性，可在cDNA合成中提供更佳性能。

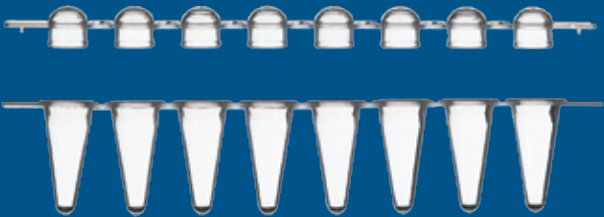
- 在较大的RNA起始范围内实现可重复的cDNA合成，数据波动性小
- 更强的酶持续合成能力，可实现快速cDNA合成
- 可耐受RT抑制剂

RevertAid逆转录酶

Thermo Scientific™ RevertAid™逆转录酶是一种野生型的M-MuLV RT，具有常规的cDNA合成性能。提供有RNase H活性和无RNase H活性的产品形式。

您知道吗？

我们可提供适用于Applied Biosystems™热循环仪和实时荧光定量PCR仪等多种仪器的现货塑料制品：PCR管、联排管、24孔至384孔PCR反应板及各种封板膜。
更多信息，请登录 thermofisher.com/oemoplastics



质量控制

定制质量测试可以帮助确保逆转录酶在您的RNA分析中具有高性能。

参数*	使用方法
单位浓度	一个单位的酶掺入1 nmol dTMP至多核苷酸中, 37°C, 10分钟
脱氧核糖核酸内切酶和脱氧核糖核酸外切酶	将放射性标记的单链和双链寡核苷酸与酶一起孵育
脱氧核糖核酸内切酶 (缺口活性)	将超螺旋质粒DNA与酶一起孵育
核糖核酸酶	将放射性标记的RNA转录本与酶一起孵育
功能测试	第一链cDNA合成功能测试
人gDNA*	定量PCR测试, 利用人gDNA片段的扩增
大肠杆菌gDNA*	定量PCR测试, 利用大肠杆菌23S rRNA基因片段的扩增

* 标准质量控制程序的范围因酶的不同而异。

出众的性能和可靠性， 适用于高要求的应用领域

qPCR级的dNTP

我们的dNTP已经过广泛的测试和验证，适用于各种分子生物学应用，包括如RT-qPCR (图7)和新一代测序这样的高敏感技术。

所有dNTP制剂均具有便捷性和灵活性。标准核苷酸(dATP、dCTP、dGTP、dTTP和dUTP)以100 mM溶液的形式提供，核苷酸混合物可制成每种核苷酸高达100 mM的浓度。

优点

- 各种dNTP均使用专用设备生产
- 经过测试不含污染的RNA酶或DNA酶活性，不含qPCR、PCR和RT的抑制剂
- 高稳定性 — 保质期达36个月；经过>100次冻融后仍可保持稳定
- 可大规模生产(>1,000 L)
- 可提供单独的dNTP溶液和混合物形式
- 高纯度(≥99%)，经HPLC检测(图8)

?

您知道吗？

我们的OEM PCR和qPCR耗材可进行定制，从概念到设计、原型制作、成型和质量控制再到包装盒上的标签，能够满足您的全部需要。

更多信息，请登录 thermofisher.com/oemplastics

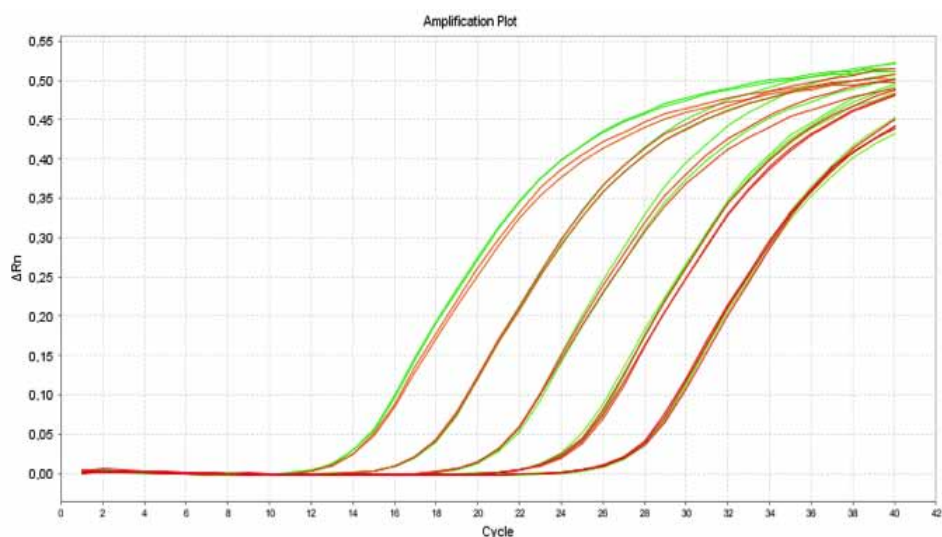
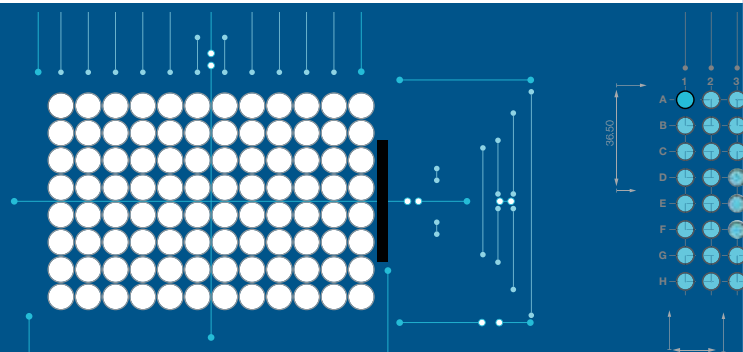


图7. 高质量的dNTP可以确保在定量PCR中获得一致的Ct值，尤其是在起始模板浓度较低的情况下。dNTP已经过测试，用于GAPDH基因检测。方法是在两步法RT-qPCR中，使用不同量的RNA转录物(0.05 μg/μL RNA溶液，从1 × 10⁷个拷贝稀释到1 × 10³个拷贝)进行逆转录，然后使用热启动Taq DNA聚合酶进行扩增。

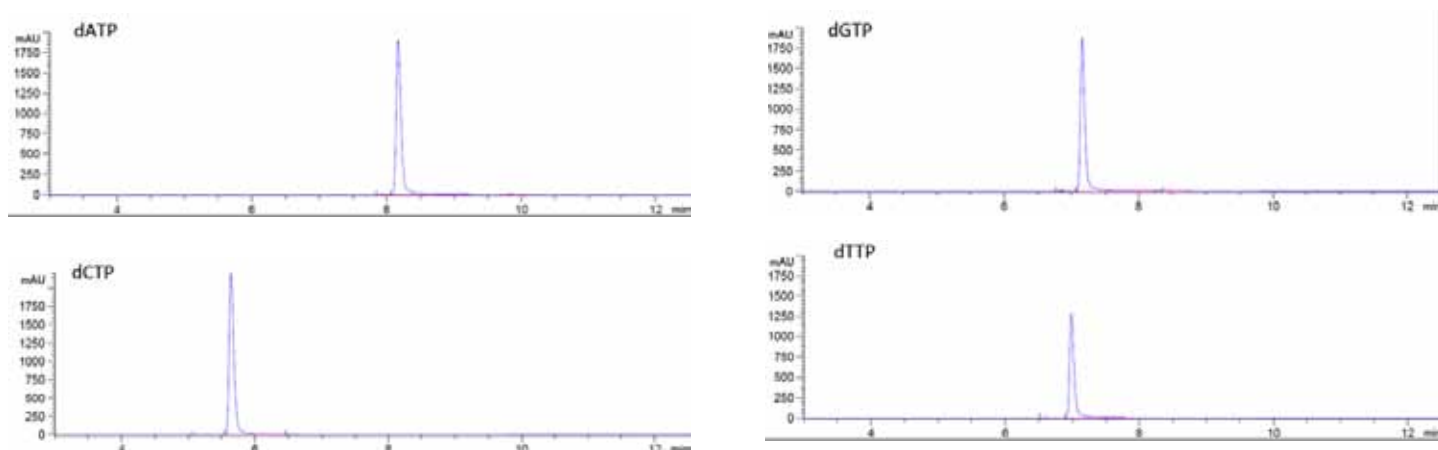


图8. 纯度≥99% dNTP的HPLC分析图谱。HPLC分析显示，三磷酸纯度超过99%，不含可检测的单、双和四磷酸形式。



质量控制

定制的质量测试可以帮助确保dNTP在您的DNA和RNA分析中具有高性能。

参数*	使用方法
外观	澄清、无色溶液
pH值	7.3–7.5
浓度	100 ±3 mM
碱基纯度(HPLC)	>99.5%脱氧核糖核苷
纯度(HPLC)	≥99%三磷酸
焦磷酸	<0.003 pmol PPi/pmol dNTP
核酸内切酶和缺口活性	将超螺旋质粒DNA与dNTP一起孵育后无法检测出
核酸内切酶和核酸外切酶	将放射性标记的单链和双链寡核苷酸与dNTP一起孵育后无法检测出
核糖核酸酶	将RNA转录物与dNTP一起孵育后无法检测出
人类DNA	在定量PCR测试中无法检测出, 该测试利用人类gDNA中的Alu重复片段的扩增
大肠杆菌DNA	在定量PCR测试中无法检测出, 该测试利用大肠杆菌23S rRNA基因片段的扩增
功能测试	在两步法RT-qPCR中进行功能测试, 使用不同起始量的RNA转录物进行逆转录, 然后使用热启动 <i>Taq</i> DNA聚合酶进行扩增

* 标准质量控制程序的范围因定制产品的不同而异。



客户服务

与客户保持长期合作关系是我们的目标；了解您的需要、困难及要求是我们的业务基础。我们开诚布公地进行交流，履行我们的承诺。

- 您的业务将由专门从事OEM的专家团队负责
- 我们能够针对问题、文档要求和技术支持迅速且准确地做出回应
- 我们会采取极其严格的保密措施

如需了解更多信息，请登录 thermofisher.com/oem-partner



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学官方微信

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982
销售服务信箱：sales.china@thermofisher.com
技术咨询信箱：LifeScience-CNTS@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC