

Super Hotstart Taq Polymerase

货号规格

货号	P1201	P1202	P1203	P1204
规格	250U	1,000U	5,000U	50,000U

产品简介

东盛生物 Super Hotstart Taq Polymerase 是双抗体技术修饰热启动酶，该酶在室温下活性被完全封闭，预变性时间缩短至 1 分钟。可提供优异的特异性、灵敏度及产量；并可实现室温条件下配制反应体系。扩增片段长度可达 5 kb（简单模板）。延伸速率为 2min/kb（70-75℃，简单模板可达 20s/kb）。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 末端。

产品组成

Component	P1201	P1202	P1203	P1204
Super Hotstart Taq Polymerase	50 µl	200 µl	1 ml	1 ml × 10
10× Hotstart Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 10	50 ml × 10

活性定义

一个活性单位 (U) 指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系，体系大小与组分用量与添加顺序可调整：

Ordinal	Component	50-µl rxn	Final conc.
1	10× Hotstart Buffer (Mg ²⁺ Plus)	5 µl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 µl	0.2 mM
3	upstream primer (10 µM) ^[1]	2 µl	0.4 µM
4	downstream primer (10 µM) ^[1]	2 µl	0.4 µM
5	Super Hotstart Taq Polymerase (5U/µl) ^[2]	0.5-1 µl	2.5-5U
6	template DNA ^[3]	1-4 µl	<1 µg
7	超纯水 ^[4]	To 50 µl	-
optional	MgCl ₂ (MgSO ₄)/PCR Enhancer ^[5]	Variable	-

[1] 引物终浓度建议范围：0.1-1 µM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[2] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

[3] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50 µl 反应体系）。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1µg-1µg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水（Cat. #: P9021/P9022/P9023）。

[5] 可单独订购 25mM MgCl₂（Cat. #: P9031）和 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	2 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	25-35
Annealing	55℃ ^[1]	30 sec	
Extension	72℃	Variable ^[2]	1
Final Extension	72℃	5-10 min	

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 2min/kb 来设最佳（简单模板可达 20s/kb）。

3. 分析结果

将产物与 loading buffer 混匀后进行琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要,可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有: 1 调整退火温度; 2 减少抑制剂的影响,如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分,需要高倍稀释(1: 10000)后使用; 3 采用乙醇沉降洗脱,提高模板 DNA 的纯度; 4 使用 PCR 添加剂,如 PCR Enhancer (Cat. #: P9041)、MgCl₂ (Cat. #: P9031) 等可提高产量。

操作注意事项

1 本产品采用双抗体修饰技术,依赖温度激活 DNA 聚合酶,能有效抑制非特异性结合,可在室温下配置反应体系。

2 Super Hotstart Taq Polymerase 具有脱氧核苷酸转移酶活性,因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷,可直接用于 TA 克隆。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间;上下游引物 3'末端避免互补,避免出现 3 个以上重复的 G 或 C,或出现发夹结构,否则会产生非特异性扩增;GC 含量控制在 40-60%,且上下游引物 GC 含量尽量接近;Tm 值控制在 55-65℃之间,且上下游引物 Tm 值尽量接近,额外附加序列(酶切位点、修饰等)是非模板匹配序列,不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。