

HS Hotstart Taq Polymerase

货号规格

货号	P1091
规格	500U

产品简介

HS Hotstart Taq Polymerase 是经抗体修饰得到的热启动型 Taq DNA 聚合酶，在 55°C 以下聚合酶活性被严格封闭，95°C 预变性 30 秒即可使抗体完全失活，聚合酶活性被完全释放，从而能够显著抑制非特异性扩增，使 PCR 反应具有极高的特异性，更适合进行多重 PCR 反应。同时优化了反应缓冲液，保证反应具有极高的灵敏度，适合从低拷贝和复杂模板中扩增目的片段，是荧光定量 PCR 诊断试剂的理想原料。

产品组成

Component	P1091
10X HS Hotstart Taq Buffer ^a	1 ml × 2
dNTP Mix (10 mM each)	400 µl
HS Hotstart Taq Polymerase (5 U/µl)	100 µl

a 含 20 mM 镁离子

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°C、30 min 内，摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

保存条件

-30~-15°C 保存。

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：经不同来源的模板和引物检测，产品具有优秀的特异性、灵敏性及可重复性等。

应用举例

1. 配制反应体系

Component	50-µl rxn	Final conc.
10X HS Hotstart Taq Buffer	5 µl	1X
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl	0.2 mM
Primer 1 (10 µM) ^[1]	2 µl	0.4 µM
Primer 2 (10 µM) ^[1]	2 µl	0.4 µM
Template DNA ^[2]	x µl	<1 µg
HS Hotstart Taq Polymerase (5 U/µl) ^[3]	0.5 µl	2.5 U
ddH ₂ O	补足至 50 µl	-

[1] 引物终浓度建议范围：0.2-0.6 µM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[2] 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

[3] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

请根据实验需要参考以下示例进行程序设置：

Stage	Temperature	Time	Cycle
Initial denaturation	95°C	30 sec	1
Amplification	Denaturation	95°C	30 sec
	Annealing	55-65°C ^[1]	30 sec
	Extension	72°C	Variable ^[2]
Final extension	72°C	5-10 min	1

[1] 最适退火温度需要摸索。退火温度一般设定为所用引物的 T_m-5°C，若低于 55°C，则以 T_m 值为退火温度，一般不低于 55°C。

[2] 按 60 sec/kb 的速率设置延伸时间。

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 本产品采用抗体修饰 Taq 酶, 依赖温度激活 DNA 聚合酶活性, 能有效抑制非特异性结合, 可在室温下配置反应体系。

2 HS 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。