

Hot Start Taq DNA Polymerase

热启动 Taq 聚合酶（抗体封闭）

货号: MA204



产品说明

本产品含有经过定向进化改造的 Taq DNA Polymerase，具有更强的 5'→3'聚合酶活性，扩增速度进一步提升，对扩增环境中的杂质耐受性更强。经过表达纯化精制得到，不含核酸内切酶、核酸外切酶以及杂质 DNA 分子。含有高活性结合酶活性口袋的单克隆抗体，防止操作过程中的非特异扩增。PCR 产物的 3'端带 A，可克隆至 T 载体

组分	规格
10 × Taq Buffer (Mg2+Plus)	4 mL
dNTPs (10mM)	0.8 mL
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	1000U

产品优势

1. 反应 Buffer 含有 Mg^{2+} 和最佳浓度的 PCR 稳定剂
2. 扩增效率高，优良扩增复杂模板
3. 不含核酸酶
4. 加入单克隆抗体，实现热启动反应

保存条件

储存温度：-20℃保存 2 年

运输温度：冰袋运输

单位定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74℃ 30 min 内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位(U)。

注意事项

1. 反应体系配制过程中尽可能在洁净超净台操作，防止气溶胶污染。
2. 为提高反应特异性，建议在冰上操作。

使用方法

1. 配置反应体系

成分	50ul/体积
10 × Taq Buffer (Mg ²⁺ Plus)	5 ul
dNTPs (10 mM)	1 ul
Primer F (10 μM)	2 μl
Primer R (10 μM)	2 μl
Template ^c	X ul
Taq DNA Polymerase (5 U/ ul) ^b	0.5 μl
ddH ₂ O	To 50 ul

- a. 在 PCR 反应中,通常 Mg²⁺使用终浓度为 1.5 - 2 mM,为获得更优异的扩增效果,可以 0.2 - 0.5 mM 为间隔摸索 Mg²⁺最佳使用浓度。
- b. 酶量在 0.25 - 1 μl 之间调整,通常加大酶量可提高产量,也可能降低反应特异性。
- c. 不同模板最佳反应浓度略有不同,下表为 50 ul 反应体系推荐模板使用量:

模板类型	推荐用量
质粒 DNA	0.1-10 ng
cDNA	不超过 PCR 反应体积的 1/10,通常 2-5ul
λDNA	0.5-10 ng
Ecoli 基因组 DNA	10-100 ng
动植物基因组 DNA	0.1-1 ug

2. 设置反应程序:

温度	时间	循环数
95°C	3 min ^a	1
95°C	15 sec	30-35
55 or (Tm-5) °C	15 sec ^b	
72°C	50 sec/kb	
72°C	5 min	1

- a: 如扩增复杂模板,可调整预变性时间延长至 5-10 min 以提高预变性效果;
- b. 如扩增复杂模板,需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增;

常见问题及应对策略:

PCR扩增产物浓度低

- 待扩增DNA片段GC碱基比例偏高,可选用适合扩增高GC碱基比例的DNA聚合酶,或者搭配 GC-Enhancer Buffer, 调整反应程序即可获得非常好的扩增效果。
- 待扩增DNA片段长度超过2kb, 建议使用扩增长片段的DNA聚合酶。
- 引物设计不佳, 建议重新设计引物。

未扩增出特异性目的条带

- 1.引物设计不合适，建议用专业引物设计软件重新设计。
- 2.配制反应体系时引入外源DNA污染，或者未在冰上配制，导致非特异性扩增。
- 3.退火温度不合适，建议根据引物和待扩增DNA片段特点进行优化。
- 4.延伸时间短，根据待扩增DNA片段长度作微调整。
- 5.循环数不足，在30-35之间适当延长循环数。
- 6.模板含量过低，适当加大模板量。
- 7.模板中含有抑制PCR反应的物质，建议对模板DNA进行纯化。
- 8.出现非特异性扩增，可适当升高退火温度。

仅用于实验研究，不能用于诊断医疗或其它用途