

HS™ Taq DNA 聚合酶

货号: P1081, P1082, P1083, P1084

产品简介

HS™ Taq DNA 聚合酶（高特异性 Taq DNA 聚合酶）是针对普通 Taq DNA 聚合酶灵敏度高，易产生非特异性条带的情况，专门研制的高特异性嗜热 DNA 聚合酶产品。本产品的反应缓冲液的离子种类和浓度都经过改良，使得引物与模板的特异性结合力显著增强，从而提高引物与模板结合的严谨性，减少非特异性扩增。实验数据证明 HS™ Taq DNA 聚合酶能显著提高 PCR 扩增的特异性，降低背景，又能对长片段有较高的扩增效率。延伸速度为 30s/kb（70~75℃，简单模板可达 10s/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，可直接用于 TA 克隆。

产品组成

Component	P1081	P1082	P1083	P1084
	250U	500U	1,000U	18,000U
HS™ Taq DNA 聚合酶 (5U/μl) [1]	50 μl	100 μl	200 μl	100 μl × 36
HS™ Taq DNA 聚合酶 (2.5U/μl) [1]	100 μl	200 μl	400 μl	200 μl × 36
10× HS™ PCR Buffer (Mg ²⁺ Plus) [2]	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 36
6× Loading Buffer ^[3]	1 ml	1 ml	1 ml	-

[1] HS™ Taq DNA 聚合酶分为 2.5 U/μl 与 5 U/μl 两种包装，可自由选择，如没特别说明提供 5 U/μl 的包装。

[2] 10× HS™ PCR Buffer 分为 Mg²⁺ Plus 与 Mg²⁺ Free 两种包装，可方便选择。如无特别说明提供 Mg²⁺ Plus 缓冲液。Mg²⁺ Free 的 10× HS™ PCR Buffer 提供 25 mM MgCl₂。

[3] P1084 不包含 6× Loading Buffer，如有需要请单独购买（Cat. #: M9041）。

本产品不含 dNTPs，如有需要请单独购买（Cat. #: P9011/P9012/P9013）。

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	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	10× HS™ PCR Buffer (Mg ²⁺ Plus)	5 μl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μl	0.4 mM
3	upstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
4	downstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
5	HS™ Taq DNA 聚合酶 (5U/μl) ^[2]	0.5 μl	2.5U
6	template DNA ^[3]	1-4 μl	<1μg
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°C	3 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	
Annealing	55-68°C ^[1]	30 sec	25-35
Extension	72°C	Variable ^[2]	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 30s/kb 来设最佳 (简单模板可达 10s/kb)。

3. 分析结果

将产物与 loading buff1miner 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 室温下 HS™ Taq DNA 聚合酶有一定的活性, 为避免发生非特异性扩增, 请于冰上配置反应体系, 并且最后添加 HS™ Taq DNA 聚合酶或模板 DNA。

2 HS™ DNA 聚合酶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。也可以使用 HS™ DNA 聚合酶进行加 A 反应。

3 碱基错误率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。HS™ Taq DNA 聚合酶的碱基错误率为 1×10^{-5} 。

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; T_m 值控制在 55-65°C 之间, 且上下游引物 T_m 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 T_m 值计算。

本品仅供科学研究使用。