

Fast Hotstart Taq Polymerase

货号规格

货号 P1281 P1282

规格 500 U 2,000 U

产品简介

Fast Hotstart Taq Polymerase 是经抗体修饰得到的热启动型快速 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。本酶能耐受多种 PCR 抑制剂及酶变性剂，适合用于复杂样品的 PCR 扩增。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	P1281	P1282
Fast Hotstart Taq Polymerase (5 U/μl)	100 μl	200 μl × 2
10X Fast Hotstart Taq Buffer	1 ml × 2	1 ml × 8

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

-20°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 Fast 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	x μl	<1 μg
Fast Hotstart Taq Polymerase (5 U/μl) ^[2]	0.4 μl	2 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] 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	60 sec	1
Amplification	Denaturation	95°C	15 sec
	Annealing	55-65°C ^[1]	15 sec
	Extension	72°C	Variable ^[2]
Final extension	72°C	5 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 $T_m - 5^\circ\text{C}$ 。

[2] 按 15 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（1:100）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。