

**Hot Start Taq DNA Polymerase**

产品编号 E00049

版本 06152017

I	产品简介.....	1
II	产品组成.....	1
III	储存条件.....	1
IV	应用.....	1
V	操作步骤.....	1
VI	质量控制.....	2
VII	活性测试.....	2

**I 产品简介**

Hot Start Taq DNA Polymerase 是混合了 Taq DNA Polymerase 抗体的 Taq DNA Polymerase，Taq DNA Polymerase 抗体在 PCR 的初始变性步骤之前封闭了 Taq DNA Polymerase 的活性，减少了 PCR 的非特异性扩增，提高了 PCR 的特异性，可在室温下配制 PCR 体系，当 PCR 稳定达到 95°C 时 Taq DNA Polymerase 活性恢复。

**II 产品组成**

产品组成	规格	Catalog No.	浓度
Hot Start Taq DNA Polymerase	250 U 1000 U	E00049-250 E00049-1000	5 U/μL 5 U/μL
10×Taq Buffer	1mL		10×

**III 储存条件**

-20°C。

**IV 应用**

Hot Start Taq DNA Polymerase 用于增强特异性的 PCR 扩增。

## V 操作步骤

使用前要确保各组分融化并混匀，多个反应可先将共有组分配制混合物。反应体积可按比例进行缩减。

1.

10×Taq Buffer	5 μL
dNTP Mix (10 mM each)	1 μL
5' primer, 10 μM	1 μL
3' primer, 10 μM	1 μL
Hot Start Taq DNA Polymerase <sup>§</sup>	0.2-0.5 μL (1-2.5 U)
DNA template (10-100 ng)	X μL
Nuclease free H <sub>2</sub> O	Up to 50 μL

§ 需要根据扩增片段长度调整用量。典型用量 1U，对于长度大于 8000 碱基对目的片段，可能需要 2.5U。

2. PCR 参数:

步骤	温度	时间	循环
预变性	95 °C	30 s or 5 min	1
变性	94 °C	15-30 s	
退火	Varies	15-30 s	25-35
延伸	72 °C	1 kb/min	
终延伸	72 °C	5 min	1
	4 °C	Hold	-

注意：这是一个基本的使用方法，试剂浓度、反应条件、反应参数必要时可进行优化。

## VI 质量控制

- **抗体抑制分析:** 65°C 孵育 30 分钟，Taq DNA Polymerase 大于 95% 的活性被抑制。
- **抗体加热失活分析:** 95°C 孵育 30 秒，Taq DNA Polymerase 大于 95% 的活性被释放。
- **RNase 活性分析:** 10U Hot Start Taq DNA Polymerase 和 1 μg 总 RNA 在 37°C 孵育 1 小时，RNA 的电泳谱带不发生变化。
- **DNase 活性分析:** 10U Hot Start Taq DNA Polymerase 和 500 ng DNA 在 37°C 孵育 16 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

## VII 活性测试

1. 为测试 Taq DNA Polymerase 抗体的封闭性能，做了如下的引物延伸实验：设计了两条分别是 24bp 和 41bp 的引物，这两个引物具有 14bp 的重合部分。引物退火后和 Taq DNA Polymerase (1-2)、Hot start Taq DNA Polymerase (3-4) 65 °C 反应 0.5 h，尿素变性 PAGE 胶结果显示，Taq DNA Polymerase 的 PCR 产物中生成了一条新的 51bp 的条带，而 Hot start Taq DNA Polymerase 的 PCR 产物仍只有两条 24bp 和 41bp 的引物条带，表明抗体封闭了 Taq DNA Polymerase 的活性。

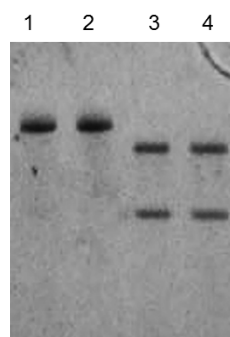


图 1. 引物延伸实验分析 Taq DNA Polymerase 抗体的封闭性能

2. 为测试 Hot Start Taq DNA Polymerase 的特异性，Hot Start Taq DNA Polymerase 用于扩增人基因组 HPRT 基因的约 500bp 片段。Taq DNA Polymerase (3-4) 扩增产物中有明显的杂带，Hot Start Taq DNA Polymerase (1-2) 提高了 PCR 特异性。

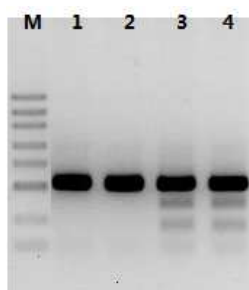


图 2. Hot Start Taq DNA Polymerase PCR 特异性检测

南京金斯瑞生物科技有限公司

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号，邮编211100

客服热线：025-58897288-5810

订购邮箱：product@genscript.com.cn

公司主页：http://www.genscript.com.cn

仅用于研究

3

860 Centennial Ave., Piscataway, NJ 08854, USA