

# Champagne Taq™ DNA Polymerase

P122-d1/d2/d3



Version 5.1

Vazyme biotech co., ltd.

## 产品简介

Champagne Taq™ antibody是抗Taq DNA polymerase的单克隆抗体，其与Taq DNA polymerase结合后抑制DNA聚合酶活性。Champagne Taq™ antibody与Taq DNA polymerase的亲和力非常高，即使在65°C下仍然可以封闭Taq DNA polymerase的活性，因此可以非常有效的抑制引物的非特异性退火及引物二聚体引起的非特异性扩增。Champagne Taq™ antibody只需要在95°C加热30秒即可完全失活，释放Taq DNA polymerase活性。

Champagne Taq™ DNA Polymerase是混合了Champagne Taq™ antibody的Taq DNA polymerase，具有极高的扩增灵敏度和特异性，适用于各种基于Taq DNA polymerase的热启动PCR、QPCR反应，非常适合于从复杂模板（基因组，cDNA）中扩增低拷贝基因。PCR产物的3'端带A，可克隆至T载体，并适用于ClonExpress®快速克隆试剂盒(C112-C113)。

## 产品组成

组 分	P122-d1 500 U (2.5 U/μl)	P122-d2 500 U (5 U/μl)	P122-d3 500U (10 U/μl)
10 × Champagne Taq™ Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus)	2 ml	2 ml	2 ml
dNTP Mix (10 mM each)	400 μl	400 μl	400 μl
Champagne Taq™ DNA Polymerase (2.5 U/μl)	200 μl	-----	-----
Champagne Taq™ DNA Polymerase (5 U/μl)	-----	100 μl	-----
Champagne Taq™ DNA Polymerase (10 U/μl)	-----	-----	50 μl

## 储存条件

-20°C保存。

## 单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，74°C 30分钟内，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)。

## 质量控制

活性封闭性检测：在1 × Champagne Taq™ Buffer中，65°C 30 min内，活性释放<5%。

活性释放检测：在1 × Champagne Taq™ Buffer中95°C加热30 s后，活性释放>95%。

核酸外切酶残留检测：10 U Champagne Taq™ DNA Polymerase和0.6 μg λ-Hind III在37°C下孵育16小时，DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：10 U Champagne Taq™ DNA Polymerase和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4小时，DNA的电泳谱带不发生变化。

RNase残留检测：10 U Champagne Taq™ DNA Polymerase和1 μg Hela细胞总RNA在37°C下孵育1小时，RNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌基因组残留检测：10 U本产品中残留的核酸经*E.coli* 16s DNA特异性的TaqMan qPCR检测，*E.coli*基因组残留低于10拷贝。

小鼠基因组残留检测：10 U本产品中残留的核酸经mouse IAP特异性的TaqMan qPCR检测，mouse基因组残留低于10拷贝。

功能性检测：1 U Champagne Taq™ DNA Polymerase与PCR reaction mix在55°C预孵育24h后，可以从10个拷贝的小鼠基因组中扩增出tPA片段。

## 应用实例

### 1. 反应体系配制

ddH <sub>2</sub> O	to 50 µl
10 × Champagne Taq™ Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus) <sup>a</sup>	5 µl
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl
5 × PCR Enhancer <sup>b</sup>	optional
模板DNA <sup>c</sup>	optional
引物1 (10 µM)	2 µl
引物2 (10 µM)	2 µl
Champagne Taq™ DNA Polymerase (2.5 U/µl) <sup>d</sup>	1 µl

a. 对于大多数PCR反应，Mg<sup>2+</sup>最佳浓度为1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为2 mM的Mg<sup>2+</sup>，如有需要，可用25 mM MgCl<sub>2</sub>以0.2-0.5 mM为间隔向上摸索Mg<sup>2+</sup>最佳使用浓度。

b. 推荐仅当扩增片段GC含量> 60%且优化条件也无法正常扩增时使用。(Vazyme #P021-01)

c. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 µl反应体系推荐模板用量：

人基因组DNA	1~500 ng
大肠杆菌基因组DNA	1~100 ng
λ DNA	0.1~1 ng
质粒DNA	0.1~1 ng

d. 酶量可在0.25-1 µl之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量，但有可能使特异性下降。使用其它浓度Champagne Taq™ DNA Polymerase时按比例改变酶的体积即可。

### 2. PCR反应条件设置

95°C	30 sec (预变性)	} 30-35 cycles
95°C	30 sec	
55°C*	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min (彻底延伸)	

\* 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度1-2°C即可。

### 引物设计注意事项

1. 引物3'端最后一个碱基选择C或G；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端尽量避免出现发夹结构；
4. 引物Tm值控制在55°C-65°C之间；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物Tm值计算；
6. 引物GC含量控制在40%-60%之间；
7. 正向引物和反向引物Tm值以及GC含量尽可能一致。