

Hieff™ Hot Start DNA Polymerase

(配体法热启动 DNA 聚合酶)

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
Hieff™ Hot Start DNA Polymerase (配体法热启动 DNA 聚合酶)	10110ES72	250 U	-20 ℃
Hieff™ Hot Start DNA Polymerase (配体法热启动 DNA 聚合酶)	10110ES80	4×250 U	-20 ℃

产品描述

Hieff™ Hot Start DNA Polymerase 是经过配体修饰的热稳定 Taq DNA Polymerase, 该配体可以随温度变化来调节 DNA 聚合酶活性。在室温下酶活性被完全封闭, 经 95℃ 加热后活性才被释放, 这样可防止在样品准备及反应升温阶段产生非特异扩增和引物二聚体。Hieff™ Hot Start DNA Polymerase 的激活时间只需要 2-3 min, 兼容现有的 PCR 程序。

Hieff™ Hot Start DNA Polymerase 的反应缓冲液中的组分、浓度都经过优化, 使得引物与模板结合的严谨性提高, 从而最大程度的减少非特异扩增和引物二聚体, 非常适合低拷贝模板的扩增。PCR 产物 3'端带 A, 可克隆至 T 载体。

产品组分

编号	组分	产品货号 (规格)	
		10110ES72 (250 U)	10110ES80 (4×250 U)
10110-A	5×HS PCR Buffer(with Mg ²⁺)	1.5 mL	4×1.5 mL
10110-B	dNTP mix (10 mM each)	150 μL	4×150 μL
10110-C	Hieff™ Hot Start DNA Polymerase (5 U/μL)	50 μL	4×50 μL

活产品应用

低拷贝基因扩增、基因型鉴定、菌落 PCR

性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 74℃ 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

核酸外切酶残留检测: 10 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 74 ℃ 下孵育 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 10 U 本品和 0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA 在 74 ℃ 下孵育 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 检测: 50 μL 体系中, 加入 2U 本品, 以 ddH₂O 为模板, 扩增 E.coil 16s rDNA 基因。35 个循环后扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 无扩增条带。

运输与保存方法

冰袋运输。-20℃ 保存。

PCR 反应体系 (50 μ L)

组分	体积	终浓度
ddH ₂ O	to 50 μ L	-
5 \times HS PCR Buffer (with Mg ²⁺)	10 μ L	1 \times
dNTP Mix (10 mM each)	1 μ L	0.2 mM
模板 DNA	适量	-
引物正向(10 μ M)	2 μ L	0.4 μ M
引物反向(10 μ M)	2 μ L	0.4 μ M
Hieff TM Hot Start DNA Polymerase (5 U/ μ L)	0.5 μ L	2.5 U/50 μ L

【注】: 1) **试剂使用:** 各组分使用前需充分融化混匀。

2) **聚合酶浓度:** 推荐使用 2.5 U/50 μ L。可以在 1.25-5 U/50 μ L 之间进行优化。

3) **PCR Enhancer 使用:** 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。

4) **Mg²⁺终浓度:** 体系终浓度为 2 mM。如有特殊需要, 可用 25 mM MgCl₂, 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索。

5) **不同模板的推荐使用量 (50 μ L 反应体系):**

模板种类	模板使用量
基因组 DNA	50 ng-200 ng
质粒 DNA	100 pg-20 ng
cDNA	1-5 μ L (不超过反应体系的 1/10)

PCR 扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	30 sec	} 35
退火	50-60 $^{\circ}$ C	30 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 sec/kb	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	10 min	1

【注】: 1) **退火温度和时间:** 温度推荐使用 50-60 $^{\circ}$ C。退火温度过低会导致非特异性扩增。引物设计参考荧光定量引物标准。

推荐退火时间设置为 30 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。也可根据需要, 设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度和时间。

2) **延伸温度和时间:** 温度推荐使用 72 $^{\circ}$ C。时间推荐使用 30 sec/kb。

3) **扩增产物:** 请将 PCR 扩增产物放置于-20 $^{\circ}$ C保存, 防止 DNA 发生降解。

注意事项

1) 推荐使用本公司 PCR Enhancer (货号: 10117ES), 以扩增高 GC 含量的目的基因。

2) 推荐使用本公司 Hieff CloneTM (货号: 10907ES 和 10908ES), 以进行快速 TA 克隆。

3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。