

## Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (抗体法热启动Taq酶)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (抗体法热启动 Taq 酶)	10113ES60	100 U
Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (抗体法热启动 Taq 酶)	10113ES76	500 U
Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (抗体法热启动 Taq 酶)	10113ES88	3000 U

### 产品描述

Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase 是 Hieff UNICON<sup>®</sup> Taq 抗体和 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase (货号: 10101ES) 的混合产品。Hieff UNICON<sup>®</sup> Taq 抗体与 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 具有很高的亲和力, 高温 50°C 处理 30 min, 依旧可以封闭 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 的活性。本品在预变性温度下加热 30 sec 完全失活, 释放出 DNA 聚合酶活性。使用该热启动 taq 酶可以有效抑制引物非特异性退火导致的扩增。

Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase 适用于热启动 PCR 和 qPCR。本品中的 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 是热稳定重组型 DNA 聚合酶, 具有较高的模板亲和力, 非常适合低拷贝模板的扩增。扩增产物具有 3'-dA, 可轻松克隆用于 T 载体。

### 产品组分

编号	组分	产品编号/规格		
		10113ES60 (100 U)	10113ES76 (500 U)	10113ES88 (3000 U)
10113-A	Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	20 μL	100 μL	600 μL
10113-B	2×Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq Buffer (含 Mg <sup>2+</sup> 、dNTP)	1 mL	1 mL×5	1 mL×30

### 产品应用

低拷贝基因扩增、基因型鉴定

### 活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 74°C, 30 min 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

**DNA 聚合酶活性封闭性检测:** 在 1×Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq Buffer (Mg<sup>2+</sup> Plus) 中, 65°C 孵育 30 min, 活性释放低于 5%。

**DNA 聚合酶活性释放检测:** 在 1×Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq Buffer (Mg<sup>2+</sup> Plus) 中, 95°C 加热 30 sec, 活性释放高于 95%。

**核酸外切酶残留检测:** 20 μL 反应体系, 10 U 本品和 0.6 μg λ-HindIII, 74°C 孵育 1 h, DNA 的电泳谱带无变化。

**核酸内切酶残留检测:** 20 μL 反应体系, 10 U 本品和 0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA, 74°C 孵育 1h, DNA 电泳谱带无变化。

**大肠杆菌残留 DNA 检测:** 50 μL 体系中, 加入 2 U 本品, 以无菌 ddH<sub>2</sub>O 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°C 保存, 有效期 2 年。

## PCR 反应体系 (50 $\mu$ L)

组分	体积	终浓度
ddH <sub>2</sub> O	to 50 $\mu$ L	-
2 $\times$ Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq Buffer (含 Mg <sup>2+</sup> 、dNTP)	25 $\mu$ L	1 $\times$
模板 DNA	适量	-
Primer 正向 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Primer 反向 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase (5 U/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L	2.5 U/50 $\mu$ 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  $\mu$ L。可以在 1.25-5 U/50  $\mu$ L 之间进行优化。

3) **Mg<sup>2+</sup>终浓度:** 体系终浓度为 2 mM。如有特殊需要, 可用 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 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  $\mu$ 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 $\mu$ 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	1 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	10 sec	} 35-40
退火	60 $^{\circ}$ C	20 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 20 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。

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。

4) **扩增程序:** 本产品用于定量实验, 可使用 2 步法程序扩增, 去掉延伸步骤, 退火和延伸合为一步, 对应的时间常用 30 sec 或根据仪器型号设置, 如 Applied Biosystems 7300 需用 31 sec 以上。

## 注意事项

1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。