

## HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)

### 产品简介

HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)是一种创新型的抗体修饰的热启动酶。该聚合酶经基因工程改造去除了 5' → 3' 外切酶活性。该酶在室温下活性被完全封闭，避免了在样品准备及第一循环反应升温阶段产生非特异性扩增和引物二聚体，增加了 DNA 扩增的特异性。加热到 70°C 时，结合在酶上的抗体迅速失活，且不会影响之后的 Taq DNA 聚合酶反应。

使用抗体的热启动法，与化学修饰热启动法不同，无需长时间的变性步骤，具有在第一循环的变性步骤中即可完全失活的优点，该酶具有特异性好、灵敏度高、重复性好、扩增效率高等优点。

### 产品信息

编号	试剂盒组成	80124S (250 U)	80124L (1000 U)	80124XL (10000 U)	储存条件	保质期
①	HotStart Taq DNA polymerase (exo-, 5 U/μL)	50 μL	200 μL	2 mL	-20°C	2 年
②	10×HotStart Standard Reaction Buffer (含 2 mM Mg <sup>2+</sup> )	1 mL	2*2 mL	--		
③	dNTP (10 mM)	200 uL	800 uL	--		

### 单位定义

75°C 条件下，30 分钟内将 10 nmol 脱氧核糖核苷酸(dNTPs)合成多聚核苷酸所需的酶量定义为 1 个活性单位。

### 特点

来源于重组表达，分子量：90kD；  
无 5' → 3' 和 3' → 5' 外切酶活性。

### 失活或抑制

- 低浓度的尿素、甲酰胺、二甲基酰胺 (DMF) 和二甲基亚砷 (DMSO) 对 Taq DNA 聚合酶的活性无抑制。
- 较高浓度的非离子表面活性剂如 Tween-20、NP-40 和 Triton X-100 (>5%) 能抑制 Taq DNA 聚合酶的活性。
- 极低浓度的离子表面活性剂如脱氧胆酸钠 (<0.06%)，十二烷基肌氨酸钠 (<0.02%)，十二烷基硫酸钠 (SDS, <0.01%) 几乎完全抑制 Taq DNA 聚合酶活性。
- 酚/氯仿抽提可使 Taq DNA 聚合酶丧失活性。

### 操作说明

- PCR 各组分在冰上完全融化并充分混匀，最后加入 HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)，以减少引物二聚体和非特异性条带的产生（加样操作均在冰上完成）。以 50 μL 反应体系为例，按照下表进行加样：

组分	加入体积	终浓度
10×HotStart Standard Reaction Buffer <sup>a</sup>	5 μL	1 × (含 2mM Mg <sup>2+</sup> )
10 mM dNTP	1 μL	0.2 mM
Primer F (10 μM)	1 μL	0.2 μM (0.05~1 μM)
Primer R (10 μM)	1 μL	0.2 μM (0.05~1 μM)
Template DNA <sup>b</sup>	Variable	<1 μg/50μL
HotStart Taq DNA polymerase (exo-, 5U/μL)	0.25 μL	1.25 U/50μL (0.25~2.5 U/50μL)
ddH <sub>2</sub> O	Up to 50 μL	

a. HotStart Taq DNA Polymerase (exo-) 的催化活性对 Mg<sup>2+</sup> 浓度非常敏感，Mg<sup>2+</sup> 终浓度在 2.0 mM 时酶的催化活性最高。1×PCR 反应液中包含 2mM Mg<sup>2+</sup>，适当提高 Mg<sup>2+</sup> 浓度可以提高 PCR 产量，但过高的 Mg<sup>2+</sup> 浓度不但抑制酶的活性，还会增加错配几率。

b. 不同类型的 DNA 模板，在 50 μL 反应体系中的推荐用量为：基因组 DNA：10ng~1 μg；质粒 DNA：1~30 ng。

2. 推荐 PCR 程序如下表：

步骤	温度	时间	循环数
预变性 <sup>a</sup>	95°C	5 min	1
变性	95°C	15-30 s	25~40
退火 <sup>b</sup>	45~68°C	15-60 s	
延伸 <sup>c</sup>	68°C	1Kb/min	
末期延伸 <sup>d</sup>	68°C	5 min	1
Hold	4-10°C		

a. 需要足够的预变性时间解除抗体封闭；对于高 GC 含量或复杂二级结构的模板，可以适当延长预变性时间至 5~10 min。

b. 根据引物与模板的特性，退火温度可在 52°C~68°C 之间进行调整。

c. 扩增速率为 1 Kb/min。

d. 如需将 PCR 产物直接用于 TA 克隆，可将最后的延伸时间设定为 20 min。

### 注意事项

- 请将需要预混的全部组分配制成为 PCR 混合物后使用，以降低加样误差。
- 使用的 PCR 仪如无加热盖，推荐在 PCR 样品上方覆盖少量矿物油。
- Taq DNA 聚合酶(exo-)的扩增产物在 3' 端包含 dA-overhangs，因此可直接连接到 dT/dU-overhang 载体上，应用于 TA 克隆。

### 产品列表

货号	产品名称	规格
80124S	HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)	250 U
80124L	HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)	1000 U
80124XL	HotStart Taq DNA Polymerase (exo-)	10000 U

### 有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权，受有关商标权、专利权、版权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用，并且该权利不可转让，亦不可用于任何商业应用，购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用（包括但不限于代理销售），则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可，并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权利信息，请联系 [Beaver@beaverbio.com](mailto:Beaver@beaverbio.com)，或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址：苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 A6-101，邮编 215123。

本产品由苏州海狸生物医学工程有限公司生产。

### 版权声明：

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容，无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息，未经特殊说明，其著作权均属于苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律法规，不尊重本声明，不经同意，擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为，本公司保留采取法律措施，追究其责任的权力。

需要支持，请访问：[www.beaverbio.com/support](http://www.beaverbio.com/support) 或电子邮件：[Service@beaverbio.com](mailto:Service@beaverbio.com)