Fax: 010-56371281



热启动 Taq DNA 聚合酶 (化学修饰)

货号: PC1111 规格: 500U/1000U

活性: 5U/μL

保存: -20℃保存, 有效期至少一年。

产品简介:

本制品是化学修饰的热启动 Taq DNA Polymerase,高温加热前 Taq 酶活性被化学方法封闭,从而抑制低温条件下由引物的非特异性退火或引物二聚体引起的非特异性扩增,而在特定温度下(95℃)孵育一段时间后去修饰可以恢复正常活性,从而实现活性可控。本品在 qPCR 反应中,能明显提高荧光 PCR 的扩增效率(尤其对低拷贝数模板),改善其扩增曲线的完美度,其稳定性好、可重复性高、特异性强。此酶室温放置一周,酶活性仍可保持 95%以上。

活性定义:

1 单位(U) Taq DNA Polymerase 活力定义为在 74° C,30 分钟内,以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板,将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

质量控制:

SDS-PAGE 检测 Taq DNA Polymerase 纯度大于 99%; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人类基因组中的单拷贝基因; 室温存放一周, 无明显活性改变。

酶贮存缓冲液:

50%甘油,0.1mM/L EDTA,1mM/L DTT,稳定剂。

适用范围:

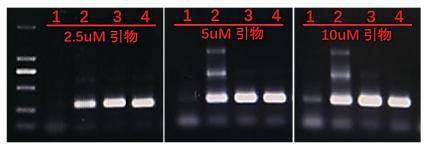
用于小于 6kb 的对保真度要求不高的 DNA 片段的 PCR 扩增、DNA 标记、引物延伸、序列测定、平末端加 A 等,产物可以直接用于 T/A 载体克隆。

建议 PCR 条件: 预变性温度是 95 度,时间为 5-10 分钟,变性温度建议 95 度 15s-20s 最佳,其它的和普通 Taq 酶的反应条件一样。

PCR 体系(以 50_{ul} 反应体系为例)

Template < 0.5µg

上游引物(10μM) 1μl 下游引物(10μM) 1μl 10×Buffer(含 Mg2+) 5μl dNTP(各 2.5mM) 4μl 100mM 硫酸铵 2.5ul 热启动 Taq 酶 0.5-1μl



注释:

- 1,未经修饰的普通Taq酶; 2,某公司化学修饰Tag酶;
- 3,索莱宝化学修饰Taq酶;4,索莱宝化学修饰Taq酶室温放置5天后结果。

可以明显看出来,本公司研发的化学修饰热启动Taq酶稳定性很好,且封闭性较强,避免了二聚体及非特异性条带的扩增。

特殊设计的引物 Numb F 和 Numb R 来检测酶的热启动效果。其检测原理:

上游引物 3'端的三个碱基与下游引物 3'端的三个碱基完全互补。在 PCR 循环开始前,PCR 仪升温的过程中,上下游引物很容易互搭。此时,若体系中的 DNA 聚合酶的活性没有被封闭,它会在引物 3'端处进行延伸反应,扩增出较短的引物二聚体。当反应温度升至 95℃进入正常的 PCR 扩增程序时,引物由于形成二聚体而不能正常扩增出目的片段。而若体系中的 DNA 聚合酶的活性在低温时被完全封闭,则该延伸反应不能进行。当 PCR 仪升温至 95℃时,用于封闭聚合酶活性的化学基团从酶上解离,使酶恢复聚合酶活性,从而进行正常的PCR 反应。

相关产品:

PC1100 Taq DNA Polymerase

PC1200 Tag Plus DNA Polymerase

PC1300 Pfu DNA Polymerase

PC1110 Hot Start Tag DNA Polymerase

PC2200 dNTPs Mix(10mM each)

D1020 10×DNA 上样缓冲液