

# ATGStart® Taq DNA Polymerase

## P301

### 产品简介

ATGStart® Taq DNA Polymerase 是经过化学修饰的 Taq DNA Polymerase，在室温下活性被完全封闭，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。只有经过 95°C 加热后活性才被释放。与基于抗体的热启动 Taq 酶相比，ATGStart® Taq DNA Polymerase 活性封闭更彻底，严谨性更高；与市面化学修饰的热启动 Taq 酶相比，ATGStart® Taq DNA Polymerase 的激活时间只需要 30 sec，兼容现有的 PCR 程序。ATGStart® Taq DNA Polymerase 配合优化的缓冲体系，可最大程度的减少非特异扩增和引物二聚体，带来最高的灵敏度，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，并适用于本公司 CloneUFO®快速克隆试剂盒。

### 产品组成

组分	P301 (250 U)	P301 (1,250 U)	P301 (3,750 U)
10 × ATGStart® Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus)	1 ml	3 × 1 ml	
ATGStart® Taq DNA Polymerase (2.5 U/μl)	100 μl	500 μl	3 × 1,250 U
dNTP Mix (10 mM each)	150 μl	600 μl	

### 储存条件

-20°C保存，于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

### 单位定义

用活化的大马哈鱼精子 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

#### 核酸外切酶残留检测：

20 U 本品和 0.6 μg λ-HindIII 在 74°C下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带不发生变化。

#### 核酸内切酶残留检测：

20 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37°C温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

#### RNase 残留检测：

20 U 本品和 1 μg HeLa 细胞总 RNA 在 37°C下孵育 30 min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

#### 大肠杆菌 DNA 残留检测：

2 μl 本酶中残留的核酸经 *E.coli* 16s rDNA 特异性的 qPCR 检测，*E.coli* 基因组残留低于 10 拷贝。

## 实验方案

### 1. 反应体系配制:

组分	用量
ddH <sub>2</sub> O	to 50 µl
10 × ATGStart <sup>®</sup> Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus)	5 µl
25 mM MgSO <sub>4</sub> * <sup>1</sup>	optional
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl
5 × PCR Enhancer * <sup>2</sup>	optional
模板 DNA * <sup>3</sup>	optional
引物 1 (10 µM)	2 µl
引物 2 (10 µM)	2 µl
ATGStart <sup>®</sup> Taq DNA Polymerase (2.5 U/ µl) * <sup>4</sup>	1 µl

\*1. 对于大多数 PCR 反应, Mg<sup>2+</sup>最佳终浓度为 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。

\*2. 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; 可能会降低保真度。

\*3. 不同模板最佳反应浓度有所不同, 下表为 50 µl 反应体系推荐模板使用量:

模板种类	使用量
人基因组 DNA	1 ~ 500 ng
大肠杆菌基因组 DNA	1 ~ 100 ng
λDNA	5 ~ 10 ng
质粒 DNA	0.1 ~ 1 ng

\*4. 酶量可在 0.5 ~ 1.5 µl 之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量, 但有可能会使特异性下降。

### 2. PCR 反应条件设置:

步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	95°C	30 sec ~ 5 min * <sup>1</sup>	Stage 1	Reps: 1
变性	95°C	30 sec		
退火	55°C * <sup>2</sup>	30 sec	Stage 2	Reps: 30 ~ 35
延伸	72°C	60 sec/kb		
彻底延伸	72°C	7 min	Stage 3	Reps: 1

\*1. 预变性时间至少需要 30 sec。如扩增不理想, 可适当延长 95°C 预变性时间, 最长可至 5 min。

\*2. 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

引物 3'端最后一个碱基选择 C 或 G；

引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；

引物 3'端尽量避免出现发夹结构；

引物  $T_m$  值控制在  $55^{\circ}\text{C}$  ~  $65^{\circ}\text{C}$  之间；

引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物  $T_m$  值计算；

引物 GC 含量控制在 40%~60% 之间；

正向引物和反向引物  $T_m$  值以及 GC 含量尽可能一致。