

2 × ATGStart® Taq Master Mix (Dye)

P301-3

产品简介

本产品是最新升级版的热启动 ATGStart® Taq DNA Polymerase, 经过化学修饰, 在室温下活性被完全封闭, 只有经过 95°C 加热后活性才被释放, 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, 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。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; 与现有化学修饰的热启动 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。Mix 中混合有 dNTP 以及优化的缓冲体系, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 减少了移液操作, 提高了通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得 Master Mix 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。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	P301-3 (1 ml)	P301-3 (5 ml)	P301-3 (15 ml)
2 × ATGStart® Taq Master Mix (Dye)	1 ml	5 ml	15 ml

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。

功能检测：

以 10 ng λ DNA 为模板扩增 30 个循环，1%琼脂糖凝胶电泳，染色，可见各自单一的目的条带。

实验方案

1. 反应体系配制：

组分	用量
ddH ₂ O	to 50 μ l
2 \times ATGStart [®] Taq Master Mix (Dye)	25 μ l
模板 DNA *	optional
引物 1 (10 μ M)	2 μ l
引物 2 (10 μ M)	2 μ l

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

模板种类	使用量
人基因组 DNA	0.1 ~ 1 μ g
大肠杆菌基因组 DNA	10 ~ 100 ng
λ DNA	0.5 ~ 10 ng
质粒 DNA	0.1 ~ 10 ng

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 ^{*1}	Stage 1	Reps: 1
变性	95°C	30 sec		
退火	55°C ^{*2}	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°C ~ 65°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。