

AutoStart™ Taq DNA Polymerase

P302

产品简介

AutoStart™ Taq DNA Polymerase 是经过点突变改造的 Taq DNA Polymerase，在室温下活性被大大抑制，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，AutoStart™ Taq DNA Polymerase 稳定性更好，严谨性更高，重复性更好；与现有化学修饰的热启动 Taq 酶相比，AutoStart™ Taq DNA Polymerase 的激活时间短，兼容现有的 PCR 程序。AutoStart™ 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	250 U	1,250 U	3,750 U
10 × AutoStart Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1 ml	3 × 1ml	
AutoStart™ 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 分钟内，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-Hind III 在 74°C下孵育 1 小时，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：20U 本品和 1 μg Hela 细胞总 RNA 在 37°C下孵育 30min，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

ddH ₂ O	To 50 µl
10 × AutoStart Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 µl
25 mM MgSO ₄ * ¹	optional
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl
5 × PCR Enhancer * ²	optional
模板 DNA * ³	optional
引物 1(10 µM)	2 µl
引物 2(10 µM)	2 µl
AutoStart™ Taq DNA Polymerase (2.5 U/ µl) * ⁴	1 µl

*1. 对于大多数 PCR 反应, Mg²⁺最佳终浓度为 1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为 2 mM 的 Mg²⁺, 如有需要, 可用 25 mM MgCl₂ 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索 Mg²⁺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:

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, 但有可能使特异性下降。

2. PCR 反应条件设置

95°C	30 sec -3 min *1 (预变性)	} 30-35 cycles
95°C	30 sec	
55°C *2	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min(彻底延伸)	

*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。