

AllStart® Taq DNA Polymerase

P303

产品简介

AllStart® Taq DNA Polymerase 是 Taq DNA Polymerase 和适配体抑制剂的混合物,抑制剂可逆地与酶结合,在低于 45°C 的温度完全抑制聚合酶活性,但可在正常循环条件下释放,从而允许在室温下建立反应体系。这种基于适配体的热启动不需要单独的高温孵育步骤来激活酶。该适配体修饰 DNA 聚合酶具有 5'→3' 聚合酶活性和 5' 瓣状核酸内切酶活性。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。

产品特点

全程热启动

瞬时热启动

高特异性和灵敏度

产品组成

组分	P303 (250 U)	P303 (1,250 U)	P303 (3,750 U)
AllStart® Taq DNA Polymerase (2.5 U/μl)	100 μl	500 μl	
10 × AllStart Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1 ml	3 × 1 ml	3 × 1,250 U
dNTP Mix (10 mM each)	150 μl	600 μl	

单位定义

在 75°C 下 30 min 内将 15 nmol 的 dNTP 掺入酸不溶性物质中的酶量定义为一个活性单位 (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: 20 U 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。

储存条件

-20°C 保存, 于 -20 ~ 0°C 运输。▲ 避免反复冻融。

产品应用

荧光定量 PCR

常规 PCR

菌落 PCR

微阵列分析

TA 克隆

实验方案

反应体系配制

组分	用量
ddH ₂ O	to 50 µl
10 × AllStart 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
AllStart [®] 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:

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。

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 ~ 3 min ^{*1}	Stage 1	Reps: 1
变性	95°C	15 ~ 30 sec		
退火	55°C ^{*2}	15 ~ 60 sec	Stage 2	Reps: 30 ~ 35
延伸	72°C	1 min/kb		
彻底延伸	72°C	5 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。

实验案例

作为以 AllStart[®] Taq DNA Polymerase (ATG #P303) 为核心开发的 AllStart[®] qPCR SYBR Green Master Mix (ATG #Q301)，在检测 RNA 类病毒和 DNA 类病毒质粒时均表现出媲美甚至超越抗体法修饰的竞品性能，灵敏度优于竞品 0.5 ~ 1 个循环，平台期荧光强度是抗体法修饰的两倍。甚至变性时间缩减到了 3 sec，仍能维持优秀性能。

ATG #Q101: 化学法修饰

ATG #Q301: 适配体修饰

竞品 #Q712: 抗体法修饰

以新冠 N 基因 (10⁻⁴ ng/μl) 做为竞品对比的检测模板

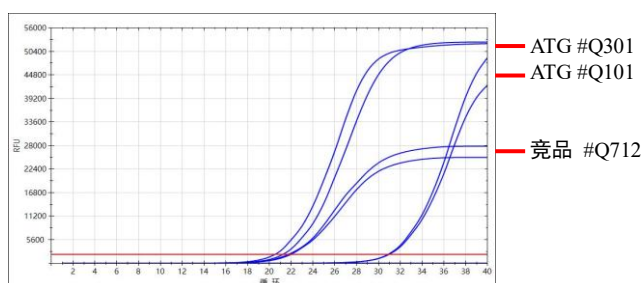


Fig1. 循环反应变性 10 sec 与竞品性能对比-N 基因

步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	95°C	30 s	Stage 1	Reps: 1
循环反应	95°C	10 s	Stage 2	Reps: 40
	60°C	30 s		

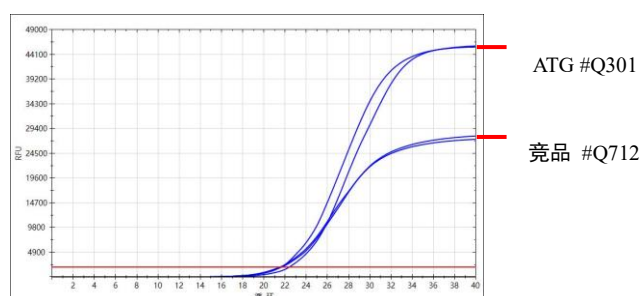
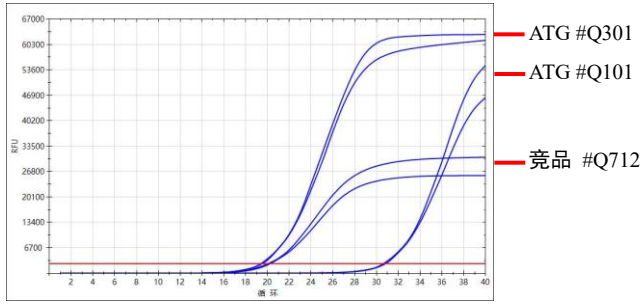


Fig2. 循环反应变性 3 sec 与竞品性能对比-N 基因

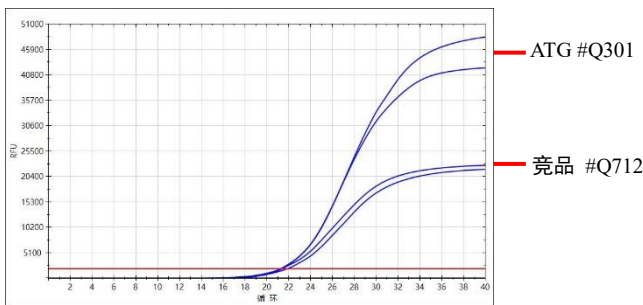
步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	95°C	30 s	Stage 1	Reps: 1
循环反应	95°C	3 s	Stage 2	Reps: 40
	60°C	10 s		

以猴痘 F3L 基因 (10^{-4} ng/ μ l) 做为竞品对比的检测模板



步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	95°C	30 s	Stage 1	Reps: 1
循环反应	95°C	10 s	Stage 2	Reps: 40
	60°C	30 s		

Fig3. 循环反应变性 10 sec 与竞品性能对比-F3L 基因



步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	95°C	30 s	Stage 1	Reps: 1
循环反应	95°C	3 s	Stage 2	Reps: 40
	60°C	10 s		

Fig4. 循环反应变性 3 sec 与竞品性能对比-F3L 基因

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 个碱基应避免连续错配；
- 引物 3'端尽量避免出现发夹结构；
- 引物 Tm 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 Tm 值计算；
- 引物 GC 含量控制在 40% ~ 60% 之间；
- 正向引物和反向引物 Tm 值以及 GC 含量尽可能一致。