

# 2 × AllStart® Taq Master Mix (Dye)

**P303-3**

## 产品简介

本产品包含最新升级版的来源于水生栖热菌的耐热 DNA 聚合酶 AllStart® Taq DNA Polymerase，全程热启动，比普通 Taq 酶具备更高的特异性和灵敏度。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。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。本品提供含有电泳缓冲液和染料的版本，可在反应结束后直接进行电泳，使用方便。

## 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	P303-3 (1 ml)	P303-3 (5 ml)	P303-3 (15 ml)
2 × AllStart® Taq Master Mix (Dye)	1 ml	5 ml	15 ml

## 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  $\mu$ l 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

### 1. 反应体系配制:

组分	用量
ddH <sub>2</sub> O	to 50 $\mu$ l
2 $\times$ AllStart <sup>®</sup> Taq Master Mix (Dye)	25 $\mu$ l
模板 DNA *	optional
引物 1 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
引物 2 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l

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

模板种类	添加量
人基因组 DNA	0.1 ~ 1 $\mu$ g
大肠杆菌基因组 DNA	10 ~ 100 ng
$\lambda$ 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 ~ 3 min <sup>*1</sup>	Stage 1	Reps: 1
变性	95°C	15 ~ 30 sec		
退火	55°C <sup>*2</sup>	15 ~ 60 sec	Stage 2	Reps: 30 ~ 35
延伸	72°C	60 sec/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 3 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<sub>m</sub> 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<sub>m</sub> 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<sub>m</sub> 值以及 GC 含量尽可能一致。