

## HS™ Taq DNA Polymerase

### 货号规格

货号	P1081	P1082	P1083	P1084
规格	250U	500U	1,000U	18,000U

### 产品简介

HS™ Taq DNA Polymerase（高特异性 Taq DNA 聚合酶）是针对普通 Taq DNA 聚合酶灵敏度低，易产生非特异性条带的情况，专门研制的高特异性嗜热 DNA 聚合酶产品。本产品的反应缓冲液的离子种类和浓度都经过改良，使得引物与模板的特异性结合力显著增强，从而提高引物与模板结合的严谨性，减少非特异性扩增。实验数据证明 HS™ Taq DNA Polymerase 能显著提高 PCR 扩增的特异性，降低背景，又能对长片段有较高的扩增效率。延伸速度为 30s/kb（70~75℃，简单模板可达 10s/kb）。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA，可直接用于 TA 克隆。

### 产品组成

Component	P1081	P1082	P1083	P1084
HS™ Taq DNA Polymerase (5U/μl) [1]	50 μl	100 μl	200 μl	100 μl × 36
10× HS™ PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) [2]	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 36
6× Loading Buffer [3]	1 ml	1 ml	1 ml	-

[1] HS™ Taq DNA 聚合酶分为 2.5 U/μl 与 5 U/μl 两种包装，可自由选择，如未特别说明默认 5 U/μl 的包装。

[2] 10× HS™ PCR Buffer 分为 Mg<sup>2+</sup> Plus 与 Mg<sup>2+</sup> Free 两种包装，可方便选择。如无特别说明提供 Mg<sup>2+</sup> Plus 缓冲液。Mg<sup>2+</sup> Free 的 10× HS™ PCR Buffer 提供 25 mM MgCl<sub>2</sub>。

[3] P1084 不包含 6× Loading Buffer，如有需要请单独购买（Cat. #: M9041）。

本产品不含 dNTPs，如有需要请单独购买（Cat. #: P9011/P9012/P9013）。

### 活性定义

一个活性单位（U）指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

### 保存条件

-20℃保存 2 年。

### 质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

### 应用举例

#### 1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系，体系大小与组分用量与添加顺序可调整：

Ordinal	Component	50-μl rxn	Final conc.
1	10× HS™ PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus)	5 μl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μl	0.2 mM
3	upstream primer (10 μM) [1]	2 μl	0.4 μM
4	downstream primer (10 μM) [1]	2 μl	0.4 μM
5	HS™ Taq DNA Polymerase (5U/μl) [2]	0.5 μl	2.5U
6	template DNA [3]	1-4 μl	<1μg
7	超纯水 [4]	To 50 μl	-
optional	MgCl <sub>2</sub> (MgSO <sub>4</sub> )/PCR Enhancer [5]	Variable	-

[1] 引物终浓度建议范围：0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[2] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

[3] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50 μl 反应体系）。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1μg-1μg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水（Cat. #: P9021/P9022/P9023）。

[5] 可单独订购 25mM MgCl<sub>2</sub>（Cat. #: P9031）和 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）。

#### 2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
-------	-------------	------	------------------

Initial Denaturation	94°C	3 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	
Annealing	55-68°C <sup>[1]</sup>	30 sec	25-35
Extension	72°C	Variable <sup>[2]</sup>	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

本品仅供科学研究使用。

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 30s/kb 来设最佳（简单模板可达 10s/kb）。

### 3. 分析结果

将产物与 loading buff1miner 混匀后进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl<sub>2</sub>（Cat. #: P9031）等可提高产量。

### 操作注意事项

1 室温下 HS™ Taq DNA Polymerase 有一定的活性，为避免发生非特异性扩增，请于冰上配置反应体系，并且最后添加 HS™ Taq DNA Polymerase 或模板 DNA。

2 HS™ DNA Polymerase 具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷，可直接用于 TA 克隆。也可以使用 HS™ DNA Polymerase 进行加 A 反应。

3 碱基错误率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。HS™ Taq DNA Polymerase 的碱基错误率为  $1 \times 10^{-5}$ 。

### 引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65°C 之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。