

## Super II Hotstart Taq Polymerase

### 货号规格

| 货号 | P1211 | P1212  | P1213  | P1214   |
|----|-------|--------|--------|---------|
| 规格 | 250U  | 1,000U | 5,000U | 50,000U |

### 产品简介

东盛生物 Super II Hotstart Taq Polymerase 是由超低核酸背景、高纯度 Taq Polymerase 采用高特异性双抗体技术修饰制成，该酶在室温下活性被完全封闭，预变性时间缩短至 1 分钟。可提供优异的特异性、灵敏度及产量；并可实现在室温条件下配制反应体系。扩增片段长度可达 5 kb（简单模板）。延伸速率为 2min/kb（70-75℃，简单模板可达 20s/kb）。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，无 3'→5'外切酶活性，可以用于 IVD 产品研发及测试。

### 产品组成

| Component                                   | P1211   | P1212       | P1213        | P1214      |
|---|---------|-------------|--------------|------------|
| Super II Hotstart Taq Polymerase            | 50 µl   | 200 µl      | 1 ml         | 1 ml × 10  |
| 10× Hotstart Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) | 1.25 ml | 1.25 ml × 2 | 1.25 ml × 10 | 50 ml × 10 |

### 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× Hotstart Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) [1] | 5 µl      | 1×          |
| 2       | dNTPs (2.5mM)                                   | 4 µl      | 0.2 mM      |
| 3       | upstream primer (10 µM) [2]                     | 2 µl      | 0.4 µM      |
| 4       | downstream primer (10 µM) [2]                   | 2 µl      | 0.4 µM      |
| 5       | Super II Hotstart Taq Polymerase (5U/µl) [3]    | 0.5-1 µl  | 2.5-5U      |
| 6       | template DNA                                    | 1-20 µl   |             |
| 7       | 超纯水   | To 50 µl  | -           |

[1] 包含 50mM MgCl<sub>2</sub>。

[2] 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。

[3] 根据项目的需求调整 DNA 聚合酶的用量，有些场景需要 10-20U。

#### 2. 设定反应程序进行 PCR 反应

| Stage                | Temperature        | Time                    | N.Cycles |
|----------------------|--------------------|-------------------------|----------|
| Initial Denaturation | 94℃                | 2 min                   | 1        |
| Denaturation         | 94℃                | 30 sec                  | 25-35    |
| Annealing            | 55℃ <sup>[1]</sup> | 30 sec                  |          |
| Extension            | 72℃                | Variable <sup>[2]</sup> |          |
| Final Extension      | 72℃                | 5-10 min                | 1        |

[1] 退火温度应根据 T<sub>m</sub> 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 2min/kb 来设最佳（简单模板可达 20s/kb）。

#### 3. 分析结果

将产物与 loading buffer 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 GC 含量片段产量。

### 操作注意事项

- 1 本产品采用双抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。
- 2 Super II Hotstart Taq 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。

### 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℃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。

本品仅供科学研究使用。