

产品概述

HS Taq 是采用化学修饰法、完全封闭常温下 Taq 酶活性的热启动 Taq 酶。HS Taq 能够有效抑制低温条件下由引物的非特异性退火或引物聚体引起的非特异性扩增，从而提高 PCR 反应的特异性和灵敏度；也可采用“Time release”方式，在 PCR 循环升温过程中使酶活性逐步得到释放，可进一步增加低拷贝模板扩增的特异性和灵敏度。该酶用于荧光 PCR 反应的主要优点是高灵敏度、高荧光值、高特异性。

规格

5 U/ μ L

试剂组成

1. 5 U/ μ L HS Taq
2. 10 $\times$ HS Buffer (Mg^{2+} free) (选配)
3. $MgCl_2$ (选配)

*10 $\times$ HS Buffer (Mg^{2+} free)不含 dNTP 和 Mg^{2+} ，配制反应体系时请加入 dNTPs 和 $MgCl_2$ 使用。

活性定义

在 74 $^{\circ}C$ 、30 min 内，以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需要的酶量为 1 个活性单位 (U)。

储存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, Stabilizer, 50% Glycerol.

保存条件

-20 $^{\circ}C$ 长期保存，使用前应混匀，避免反复冻融。

质量控制

1. SDS-PAGE 电泳纯度大于 98%。
2. 扩增灵敏度、批间差异、稳定性。
3. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

PCR 反应体系配制

Component	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10 $\times$ HS Buffer (Mg^{2+} free) ¹	5 μ L	1 $\times$
dNTPs (10 mM each dNTP)	1 μ L	200 μ M
$MgCl_2$	—	1~4 mM
5 U/ μ L HS Taq	0.25~0.5 μ L	1.25~2.5 U
25 $\times$ Primer Mix ²	2 μ L	1 $\times$
Template	—	< 1 μ g/reaction
ddH ₂ O	To 50 μ L	—

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和 Mg^{2+} ，必须补充加入 dNTPs 和 $MgCl_2$ 使用。

2. 若用于 qPCR/qRT-PCR, 则需加入荧光探针到反应体系中。通常引物终浓度为 0.2 μM 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2~1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1~0.3 μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验, 寻找引物和探针的最佳组合。

反应条件

两步法				三步法			
步骤	温度	时长	循环数	步骤	温度	时长	循环数
热启动	95°C	5~10 min	1	热启动	95°C	5~10 min	1
变性	95°C	10~20 s	35~50	变性	95°C	10~20 s	35~50
退火延伸	56~64°C	20~60 s		退火	56~64°C	10~30 s	
				延伸	72°C	10~60 s	

技术说明

1. 由于不同仪器的升降温性能不同以及该酶的自身特性, 如果采用 5 min 热启动扩增效果较差, 建议热启动时间在 5~15 min 范围内进行优化。
2. 具有较高的特异性、灵敏度, 适用于多重 PCR 反应。
3. 具有 5' -3' 聚合酶, 5' -3' 外切核酸酶活性; 无 3' -5' 外切酶活性, 无校对功能。
4. 适用于普通 PCR、RT-PCR, 以及探针法、荧光染料法、基因芯片法等检测方式。
5. PCR 产物 3' 端为 A, 产物可直接进行 T 载体克隆。
6. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。