

产品概述

Hyperstart Taq 是我公司开发的热启动酶产品，在常温下有效封闭了 Taq 酶活性，具有更高的特异性，能够在 PCR 配制和扩增过程中抑制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；能够实现 95°C、1~5 min 快速热启动。本产品能够实现对极低拷贝模板的高灵敏度检测，从而获得更加稳定的极限扩增效果。

规格

5 U/μL

试剂组成

1. 5 U/μL Hyperstart Taq
2. 10×PCR Buffer II (Mg²⁺ free) (选配)
3. 25 mM MgCl₂ (选配)

*10×PCR Buffer II (Mg²⁺ free)不含 dNTP 和 Mg²⁺，配制反应体系时请加入 dNTPs 和 MgCl₂ 使用。

活性定义

在 74°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 (pH 8.0), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.5% Tween20, 0.5% NP40, 50% Glycerol。

保存条件

-20°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×PCR Buffer II (Mg ²⁺ free) ¹	5 μL	1×
dNTPs (10 mM each dNTP)	1 μL	200 μM
25 mM MgCl ₂	2~8 μL	1~4 mM
5 U/μL Hyperstart Taq	0.25~0.5 μL	1.25~2.5 U
25×Primer Mix ²	2 μL	1×
Template	—	< 1 μg/reaction
ddH ₂ O	To 50 μL	—

1. 该 Buffer 不含 dNTP 和 Mg^{2+} ，必须同时加入 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 $0.2 \mu M$ 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 $0.2 \sim 1 \mu M$ 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 $0.1 \sim 0.3 \mu M$ 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	1~5 min	1	热启动	95°C	1~5 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. 采用 95°C 或 94°C、1~5 min 快速热启动。
2. 体系适应性强，适合于低拷贝靶片段的高灵敏度扩增，以及带内标基因的多重荧光定量 PCR 检测。
3. 具有 5' -3' 聚合酶活性、5' -3' 外切核酸酶活性；无 3' -5' 外切核酸酶活性，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。