

产品概述

Superstart Taq plus 是我公司研发的新型热启动酶产品。本产品不但能够更好地抑制在 PCR 体系配制和扩增过程中由于引物的非特异性退火或引物聚体所引起的非特异性反应，使本产品在多重扩增中能够取得更好的效果；而且能够使其对极低浓度模板的扩增得到优化，获得更高的产物量，实现更加稳定的极限扩增效果。

规格

5 U/ μ L

试剂组成

1. 5 U/ μ L Superstart Taq plus
2. 10 \times PCR Buffer II (Mg^{2+} free) (选配)
3. 25 mM $MgCl_2$ (选配)

*10 \times PCR Buffer II (Mg^{2+} free)不含 dNTP 和 Mg^{2+} ，反应体系配制时请加入 dNTPs 和 $MgCl_2$ 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)。

保存条件

-20°C长期保存，使用前应混匀，避免反复冻融。

*本品冷藏后如若出现沉淀，则属于正常现象；建议平衡至室温后再混匀使用。

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 PCR Buffer II (Mg^{2+} free) ¹	5 μ L	1 \times
dNTPs (10 mM each dNTP)	1 μ L	200 μ M
25 mM $MgCl_2$	2~8 μ L	1~4 mM
5 U/ μ L Superstart Taq plus	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 μ M 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2~1 μ M 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1~0.3 μ 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. 能够采用 95°C 或 94°C、1~5 min 快速热启动。
2. 体系适应性强，具有更高的特异性和灵敏度。
3. 在普通 PCR 中能够获得更大的产物量，在荧光定量 PCR 中能够使极低浓度模板的扩增曲线归一性、荧光值获得明显改善；
适合用作高灵敏度 PCR 检测试剂，能够用于多重 PCR 扩增反应。
4. 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。
5. 适用于普通 PCR、RT-PCR 的定性、定量检测。
6. PCR 产物 3' 端为 A，产物可直接进行 T 载体克隆。
7. 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。