

Taq-HS DNA Polymerase

REF: EG15134S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Taq-HS DNA Polymerase(5 U/μl)	200 μl
10× Taq Reaction Buffer	5×1 ml

产品简介

Taq-HS DNA polymerase 是使用小分子化合物修饰的热启动 Taq DNA Polymerase。在 60°C 以下化合物可以有效封闭 DNA 聚合酶活性，高温下发生不可逆解离，使聚合酶恢复活性，从而有效避免低温下的非特异性扩增。本品主要用于荧光定量 PCR，尤其是 Taqman 探针法。

活性定义

1 个活性单位 (U) 定义为 74°C 下，30 min 内催化 10 nmol dNTP 掺入酸不溶物所需的酶量。

质量控制

蛋白纯度检测

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

核酸内切酶活性检测

将 5 U Taq-HS DNA polymerase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37°C 下，共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性检测

将 5 U Taq-HS DNA polymerase 与 15 ng 双链 DNA 片段在 37°C 温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

宿主 DNA 残留检测

使用大肠杆菌 16S rDNA 特异性引物探针组，采用荧光定量 PCR 法检测 5 U Taq-HS DNA polymerase，大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 1 copy。

使用方法

1. 探针法荧光定量 PCR 反应体系

试剂	体积	终浓度
10× Taq Reaction Buffer	2 μl	1×
Taq-HS DNA Polymerase (5 U/μl)	0.15~0.2 μl	0.75~1 U/20 μl
dNTP (10 mM)	0.4 μl	0.2 mM
正向引物 (4 μM) ^a	1 μl	0.2 μM
反向引物 (4 μM) ^a	1 μl	0.2 μM
探针 (5 μM) ^b	1 μl	0.25 μM
模板 DNA ^c	x μl	10~200 ng/20 μl
ddH ₂ O	To 20 μl	

a. 引物推荐终浓度为 0.2 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 进行调整；引物长度请设定 18~25 bp，GC 含量为 40%~60%。最佳效率的扩增目标片段一般为 80~200 bp，设计时应尽量避免发夹结构、二聚体等复杂结构，并尽可能横跨内含子区域。

b. 探针终浓度推荐为 0.25 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 进行调整。

c. 模板添加量不应超过总反应体系的 10%，推荐加样量为 1~2 μl。不同种类 DNA 模板中含有的靶基因拷贝数目不同，必要时可进行梯度稀释，以确定最佳的 DNA 模板添加量。

2. 探针法荧光定量 PCR 反应程序

步骤	温度	时间
预变性	95°C	5 min
变性	95°C	30 s
退火 & 延伸	60°C	60 s

40 cycles