

mTaq DNA Polymerase

项目号: M665697 (100 rxns)

保存条件: -20°C

产品内容

组分	100 rxns
mTaq DNA Polymerase, 5 U/μl	5×100 μl
mTaq PCR Buffer, 10×	5×1.8 ml

产品简介

mTaq DNA Polymerase 是通过缺失 Taq DNA Polymerase N 端一段氨基酸和突变改造得到的新型 DNA 聚合酶。通过改造后使本产品能够全血中存在的抑制剂产生耐受作用，能够直接扩增人和小鼠全血样品中的 DNA 而无需事先对基因组进行提取和纯化。PCR 产物 3' 端为 A，可直接用于 T/A 克隆。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE 检测其纯度大于 99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR 方法检测无宿主残余 DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

使用方法

1. 使用前请将 mTaq DNA Polymerase 反复颠倒至完全混匀。
2. 将 PCR 薄壁管置于冰上，加入除全血外的以下试剂。

试剂	50 μ l 反应体系	终浓度
mTaq DNA Polymerase	1 μ l	/
mTaq PCR Buffer, 10 \times	5 μ l	1 \times
dNTP Mix, 2.5 mM each	4 μ l	200 μ M each
Forward Primer (10 μ M)	2 μ l	0.4 μ M
Reverse Primer (10 μ M)	2 μ l	0.4 μ M
全血*	\leq 10%	/
RNase-Free water	x μ l	/
Total	50 μ l	/

注意:

- 1) *加入全血前反复上下吸打完全混匀各种试剂、
- 2) DNA 模板: 可以使用肝素钠、Na-EDTA、K-EDTA 或柠檬酸钠处理全血。通常建议全血含量为 5-10%。不推荐使用高浓度血液。对于高 GC 含量的模板, 加入 10%DMSO。
- 3) 引物: 寡核苷酸引物长度通常含 20-30 个核苷酸, 并且最好 GC 含量在 40-60%并均匀分布于引物中。在常规的 PCR 反应中, 引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μ M 作为设定范围的参考。
3. 最后将全血加入管底。
4. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	/
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min	/
变性	95 $^{\circ}$ C	30 s	35-40 个循环
退火	50-68 $^{\circ}$ C	30 s	35-40 个循环
延伸	72 $^{\circ}$ C	250-500 bp/min	35-40 个循环
终延伸	72 $^{\circ}$ C	10 min	/

注意:

- 1) PCR 仪于 94-95 $^{\circ}$ C 预热, 将样品放置于 PCR 仪上开始循环。

- 2) mTaq 提高了冷敏感性, 具备了一些热启动特性。通常可以通过在冰上配制反应成分、最后加入聚合酶以及将热循环仪预热至变性温度 (95°C) 后立即进行反应来避免非特异性产物的产生。
 - 3) 变性温度与时间: 在 PCR 循环前为了充分裂解血液细胞和释放/变性 DNA, 要求初始变性为 95°C 5 分钟。
 - 4) 退火温度与时间: 退火时间通常为 30 秒-1 分钟。退火温度可以低于理论退火温度 (T_m) 5°C 开始, 通过梯度 PCR 进行优化。
 - 5) 延伸时间: 延伸反应通常在 72°C 下进行。一般每 250-500 bp 延伸时间为 1 分钟。推荐 72°C 10 分钟进行最终延伸。
 - 6) 通常 35-40 个循环可以达到最优扩增。
5. 结果检测: 反应结束后取 5 μ l 反应产物并加上电泳缓冲液一起电泳检测结果。