

# HotStart Tth DNA Polymerase

目录号: E108

## 01/ 产品描述

HotStart Tth DNA Polymerase 是经过抗体修饰的 Tth DNA Polymerase, 高温加热前, 抗体抑制聚合酶的活性, 从而抑制低温条件下由引物的非特异性退火或引物二聚体引起的非特异性扩增。可广泛应用于各种特异性 PCR 反应, 与 Taq 酶相比对血源性抑制物等抑制成分更加耐受。在  $Mn^{2+}$  存在下, 表现更强的反转录活性, 可以用来进行单管一步法 RT-PCR 反应。

## 02/ 产品特点

- 1) 高效: 同时具有反转录酶活性与聚合酶活性, 能够用于一步法检测。
- 2) 高特异性: 具有更高的反转录温度  $60^{\circ}C \sim 70^{\circ}C$ , 反转录的特异性高。
- 3) 高耐受: 对 PCR 抑制物具有更高的耐受性。

## 03/ 保存温度

$-20^{\circ}C$ 。

## 04/ 产品包装

产品组成	E108-01A 规格: 250U	E108-01B 规格: 1250U	E108-02A 规格: 250U	E108-02B 规格: 1250U	E108-04-M001 规格: 5KU	E108-04-M005 规格: 25KU
10×PCR buffer	500μl	2.5ml	500μl	2.5ml	-	-
5×RT-PCR buffer ( $Mn^{2+}$ Free)	1ml	5ml	1ml	5ml	-	-
HotStart Tth DNA Polymerase (5U/μl)	50μl	250μl	50μl	250μl	1ml	5ml
$MnCl_2$ (25mM)	300μl	1.5ml	300μl	1.5ml	-	-
dNTPs (10mM)	150μl	750μl	-	-	-	-

## 05/ 操作说明

### 1. PCR 反应

常用反应体系 (20μl)

10×PCR buffer	2μl
HotStart Tth DNA Polymerase (5U/μl)	1μl
dNTPs (10mM)	0.5μl
上游引物	0.2-1.0μM (终浓度)
下游引物	0.2-1.0μM (终浓度)
模板	5-500ng
RNase Free Water	至 20μl

推荐反应程序

循环数	温度	时间
1	$94^{\circ}C$	3min
35-40	$94^{\circ}C$	30s
	$55^{\circ}C$	30s
	$72^{\circ}C$	45s
1	$72^{\circ}C$	7min

## 2. RT-PCR 反应

常用反应体系 (20 $\mu$ l)

5 $\times$ RT-PCR buffer	4 $\mu$ l
HotStart Tth DNA Polymerase (5U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
MnCl <sub>2</sub> (25mM)	1 $\mu$ l
dNTPs (10mM)	0.5 $\mu$ l
上游引物	0.2-1.0 $\mu$ M (终浓度)
下游引物	0.2-1.0 $\mu$ M (终浓度)
模板	5-500ng
RNase Free Water	至 20 $\mu$ l

循环数	温度	时间
1	90 $^{\circ}$ C	30s
1	60 $^{\circ}$ C	25min
1	94 $^{\circ}$ C	3min
35-40	94 $^{\circ}$ C	30s
	55 $^{\circ}$ C	30s
	72 $^{\circ}$ C	45s
1	72 $^{\circ}$ C	7min

推荐反应程序

### 06/ 注意事项

- 1) HotStart Tth DNA Polymerase 的反转录温度在 60 $^{\circ}$ C~70 $^{\circ}$ C, 反转录时间可以为 15~30min;
- 2) 该体系更适用于特异性引物进行 RT 反应, 并且引物 T<sub>m</sub> 值应为 60 $^{\circ}$ C或更高温度;
- 3) 反应体系中含有 Mn<sup>2+</sup>, 因此, 本体系保真度有所降低, 不适合于保真度要求较高的克隆、测序等实验;
- 4) 使用时请上下颠倒轻轻混合, 避免起泡, 并经轻微离心后使用。反应液的配制、分装请使用新的(无污染的)枪头、Microtube 等, 尽量避免污染。

### 07/ 相关产品

目录号	产品名称	目录号	产品名称
Z087	Taq antibody	E097	HotStart Taq DNA Polymerase (B)
E001	Taq DNA Polymerase (with dNTP)	E098	Tth DNA Polymerase (with dNTP)