

HotStart Tth DNA Polymerase (Glycerol-Free)

目录号: E108-03

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。

本制品不包含甘油等影响冻干工艺的成分，可用于冻干反应体系的配制和产品设计。

02/ 产品特点

- 1) 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) 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) 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	E108-03A	E108-03B
HotStart Tth DNA Polymerase (Glycerol-Free, 5U/ μ l)	50 μ l	500 μ l
10 $\times$ PCR buffer*	500 μ l	5ml
5 $\times$ RT-PCR buffer (Mn^{2+} Free)*	1ml	10ml
$MnCl_2$ (25mM)*	300 μ l	1ml $\times$ 3

*不可用于冻干。

05/ 注意事项

- 1) HotStart Tth DNA Polymerase 的反转录温度在 $60^{\circ}C \sim 70^{\circ}C$ ，反转录时间可以为 15~30min；
- 2) 该体系更适合于特异性引物进行 RT 反应，并且引物 T_m 值应为 $60^{\circ}C$ 或更高温度；
- 3) 反应体系中含有 Mn^{2+} ，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。

06/ 操作说明

1. PCR 反应

常用反应体系（20 μ l）

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

推荐 PCR 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 μ l）

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

推荐反应程序

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

07/ 质量控制

经多次柱纯化，SDS-PAGE 胶检测仅可见清晰单一的目的条带，qPCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留，无核酸内、外切酶污染。

08/ 相关产品

目录号	产品名称	目录号	产品名称
Z087-KDAA	Taq antibody (Glycerol-Free)	E001-03	Taq DNA Polymerase (Glycerol-Free)
E097-03	HotStart Taq DNA Polymerase (B) (Glycerol-Free)	FLE097	HotStart Taq DNA Polymerase (B) (for-Lyo)
E017-03	HotStart Taq DNA Polymerase (Glycerol-Free)	M031-03	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase
E127-03	DNase I (Glycerol-Free)	E056-03	T4 Gene 32 Protein (Glycerol-Free)