

HotStart Tth DNA Polymerase

目录号: E108

产品描述:

HotStart Tth DNA Polymerase 是经过配体修饰的 Tth DNA Polymerase, 高温加热前, 配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。

产品特点:

- 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。
- 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。
- 对 PCR 抑制物具有更高的耐受性。

使用建议:

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。

注意事项:

- 1) Tth 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) 该体系更适用于特异性引物进行 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, 不适用于保真度要求较高的克隆、测序等实验。

保存温度: $-20^{\circ}C$ 储存。

产品包装:

产品组成	
10×PCR buffer	500μl
5×RT-PCR buffer (Mn^{2+} Free)	1ml
HotStart Tth DNA Polymerase (5U/μl)	50μl
$MnCl_2$ (25mM)	300μl
dNTPs (10mM)	150μl

*E108-02系列不含dNTPs

常用 PCR 反应体系 (20μl):

10×PCR buffer	2μl
HotStart Tth DNA Polymerase	1μl
dNTPs	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 PCR 反应程序*:

95°C, 3 分钟;
35-40 次循环 { 94°C, 30 秒
55°C, 30 秒
72°C, 45 秒
72°C 10 分钟

常用 RT-PCR 反应体系 (20μl):

5×RT-PCR buffer	4μl
HotStart Tth DNA Polymerase	1μl
$MnCl_2$	1μl
dNTPs	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 RT-PCR 反应程序*:

60°C, 30 分钟;
95°C, 3 分钟;
35-40 次循环 { 95°C, 20 秒
60°C, 1 分钟

仅供科研使用, 不能直接应用于人体