



mTaq DNA Polymerase

目录号：CW0749M

保存条件：-20℃

产品内容

Component	CW0749M
	2500 U
mTaq DNA Polymerase, 5 U/μl	5×100 μl
mTaq PCR Buffer, 10×	5×1.8 ml

注意：mTaq PCR Buffer含有30 mM MgCl₂

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	} 35-40 个循环
变性	95 $^{\circ}$ C	30 s	
退火	50-68 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	250-500 bp/min	
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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C下进行。一般每250-500 bp延伸时间为1分钟。推荐72 $^{\circ}$ 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。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及其它用途