



NL Hotstart Taq DNA Polymerase

使用说明书

目录号	规格
LH-0102A	200U
LH-0102B	1000U

保存: -20℃

【产品简介】

本制品是抗 Taq 单克隆抗体和 NL Taq DNA Polymerase 的混合制品, 适用于 Hot Start PCR。高温加热前, 抗 Taq 单克隆抗体与 NL Taq DNA Polymerase 结合, 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。抗 Taq 单克隆抗体在 PCR 反应最初的 DNA 变性步骤已变性, 因此无需特殊失活处理, 在常规 PCR 反应条件下即可使用。使用本试剂扩增得到的 PCR 产物 3'端附有一个“A”碱基, 可直接克隆于 T-Vector 中。

【试剂组成】

试剂组成	200 U	1000 U
NL Taq HS (2.5U/μl)	80 μl×1 支	400 μl×1 支
10×PCR Buffer	1 ml×1 支	1 ml×5 支
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	800 μl×1 支	800 μl×5 支
MgCl ₂ Solution (25 mM)	1 ml×1 支	1 ml×5 支
说明书	1 份	1 份

10×PCR Buffer:

Tris-HCl (pH8.3)	100 mM
KCl	500 mM

dNTP Mixture:

浓度	各 2.5 mM
状态	水溶液 (Na 盐, pH7.0-9.0)
纯度	各 98%以上

注: dATP、dGTP、dCTP、dTTP 的等摩尔的混合物, 不用稀释可直接用于 PCR 反应。

【活性定义】

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 74℃, 30 分钟内, 摄入 10 nM 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

【PCR性能】

- 1、以人的基因组DNA为模板, 可很好地扩增3.0 kbp (p53基因) 的DNA片段。
- 2、55℃条件下反应10分钟, 抗体对Taq聚合酶的活性抑制效率达90%以上。

【用途】

- 3、Hot Start PCR法扩增DNA。
- 4、DNA序列测定。
- 5、TA克隆实验。

【反应举例】

1. PCR试剂准备:

注意: 以下举例为常规PCR反应体系, 仅供参考。实验条件因模板、引物等的结构不同各异, 需要根据模板、



目的片段大小、碱基序列和引物长短等具体情况，设定最佳反应条件，实际PCR反应可根据模板等的不同，调整反应体系中的Mg²⁺浓度，设置最优反应体系，该酶的延伸温度可以在60℃-70℃之间调整。

以人的基因组DNA为模板进行Hot Start PCR扩增反应，扩增长度1KB。

反应成分	体积/反应	终浓度
10×PCR Buffer	5 μl	1×
NL Taq HS (2.5U/μl)	0.4-1 μl	0.02 -0.05 U/μl
dNTP Mixture (各2.5 mM)	2-4 μl	100-200 μM
MgCl ₂ Solution (25 mM)	3-10 μl	1.5-5 mM
Forward Primer (20μM)	0.25-0.5 μl	0.1-0.2 μM
Reverse Primer (20μM)	0.25-0.5 μl	0.1-0.2 μM
模板 DNA	3-5 μl	
ddH ₂ O	补水至 50 μl	
总体系	50 μl	

2. PCR 反应循环参数设定:

注意：请参照各类仪器的操作软件进行设置。

步骤	温度		时间		循环数	
	Roche LightCycler	非 Roche 仪器	Roche LightCycler	非 Roche 仪器		
1	预变性	94℃	94℃	2分钟	2分钟	1
2	变性	94℃	94℃	15秒	20秒	40
	退火	55℃	55℃	30-40秒	30-40秒	
	延伸	72℃	72℃	30-60秒	40-60秒	

3. 结果检测：反应结束后取 10 μl 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

【注意事项】

- 待检标本若不及时检测，应保存于-20℃。
- 实验相关耗材应用0.1%DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在37℃处理12小时，并高压灭菌30分钟后使用。
- 试剂盒各组份使用前请充分融化并摇匀，离心管内的试剂需离心数秒后使用。
- PCR操作各阶段应在不同实验区域进行，包括PCR扩增试剂准备区、标本处理区及PCR扩增检测区。
- PCR操作人员应穿工作服，戴一次性手套（经常替换手套），使用一次性用品。
- PCR操作人员应具有经验和受过培训。
- 操作过程中用到的超净台、加样枪、离心机、扩增仪等仪器设备应经常用10%次氯酸或70%乙醇及紫外灯处理。
- 实验中废弃的吸嘴应弃于含10%次氯酸的废液缸中，以防止污染。
- 实验后，扩增管切勿打开，并且将其丢弃在实验区以外区域。

【试剂运输及储存条件】

试剂盒运输可在2-8℃环境下进行。须置-20℃保存，有效期为18个月，请在有效期内使用。

注：本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。