

描述: 热启动 Apta 3GTaq DNA 聚合酶为第三代 DNA 聚合酶, 具有 5'-3'外切酶活性, 不具有 3'-5'外切酶活性, 其具有最高的杂质耐受性(对乙醇、胍盐、肝素具有极高的耐受性), 因此对于纯度较差的 DNA 模板, 该酶仍然可以获得理想的实验结果。

Apta HS 3GTaq DNA 聚合酶为高亲和力的核酸适配体 (Aptamer) 封闭酶活性中心, 因此在低温下(<37°C)DNA 聚合酶无活性(活性<10%), 当温度升高到 50°C 以上, 核酸适配体脱离酶活性中心, 从而释放酶活。

组分

名 称	250U	1000U
Apta HS 3GTaq Pol (5U/μl)	50 μl	200 μl
10XApta 3GTaq BufferG(with Mg ²⁺)	1.5 ml	1.5 ml x4

(1)活性定义: 一个活力单位指 74°C 条件下, 30min 催化 10 nmol dNTP 的掺入反应, 成为酸不溶性物质所需的酶量。

(2) PCR 反应性能: 以 λDNA 为模板, 扩增 20kb DNA 片段; 以人类基因组 DNA 为模板, 扩增 8kb DNA 片段。

(3) 1XApta 3GTaq BufferG 含 1.5 mM Mg²⁺, 1%Glycerol。

(4) 酶储存 Buffer: 10 mM Tris-HCl, pH7.5, 100 mM NaCl, 2 mM DTT, 50%甘油。

(5) 储存: -20°C 可保存 3 年。

使用说明:

1. 按照如下组分配制 50 μl PCR 反应体系:

Apta HS 3GTaq Pol (5U/μl)	0.25 μl
10xApta 3GTaq Buffer	5 μl
dNTP Mixture(10 mM each)	1 μl
上游引物(10 μM)	1 μl
下游引物(10 μM)	1 μl
模板 DNA	x μl
ddH ₂ O upto	50 μl

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

		<1kb	1-2kb	2-4kb	>4kb
预变性	95°C	2min	2min	2min	2min
循环 1	95°C	10s	10s	10s	10s
5 cycles	65°C	30s	1min	2min	2kb/min
循环 2	95°C	10s	10s	10s	10s
23 cycles	55°C	10s	10s	10s	10s
	72°C	30s	1min	2min	2kb/min
末延伸	72°C	2min	2min	2min	5min

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 TM 值 (50-70°C) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 28 (5+23), 如产物扩增亮度不足, 则增加循环 2 的次数到 25-28 个, 通常不宜超过 28。(2) 如果仍然不能获得良好的扩增结果, 则可以改变, 循环 2 中的退火温度为 50-65°C (上表中为 55°C)。

使用注意事项 (必读)

(1) 引物、模板使用参考表

在 1x 反应体系下	引物浓度 (nM)	模板浓度 (ng/μl)
<2kb	200	基因组 (0.01-1) 简单模板 (0.01-0.1)
2-4kb	100	基因组 (0.05-2) 简单模板 (0.01-0.1)

(2) 扩增片段 GC 含量>65%时, 推荐添加 5xQ Solution (货号: A3002) 至 1x 浓度, 来提升高 GC 含量的扩增性能。

(3) Mg²⁺通常情况下采用终浓度 1.5 mM, 但在 qPCR 扩增时有时需要提高到 3.5 mM。