

描述: 3GTaq DNA Polymerase 为第三代 Taq 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。Chemi Hotstart 3GTaq DNA Polymerase 为化学法修饰的 HotStart 版本, 其在 50°C 以下 100%无活性, 只有 95°C 条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力。因此该系统可以有效抑制非特异性 PCR 扩增, 极大的提高了 PCR 扩增特异性和灵敏度。该酶配有独特的反应缓冲液, 可在宽范围中得到良好的扩增结果、检测灵敏度更高、信号更强。

组分

名 称	250U	1000U
Chemi HS 3GTaq Pol (5U/μl)	50 μl	200 μl
10XChemi 3GTaq Buffer(with Mg ²⁺)	1.5 ml	1.5 mlx4

(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 4kb DNA 片段; 以人类基因组 DNA 为模板, 扩增 2kb DNA 片段。

(3) 1XChemi 3GTaq Buffer 含 2 mM Mg²⁺, 其是该酶的专用 Buffer, 在其它 Buffer 中可能不工作。该酶必须经 95 度加热 5min 后才能恢复活性, 缩短时间可能会导致扩增失败。

(4) 酶储存 Buffer: 10 mM Tris-HCl, pH7.5, 150 mM NaCl, 2 mM DTT, 10%Trehalose, 0.5%甘油。

(5) 储存条件: -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:

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

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

		<0.5kb	0.5-1kb	1-2kb
热启动	95°C	5min	5min	5min
循环 1	95°C	10s	10s	10s
5 cycles	65°C	30s	1min	2min
循环 2	95°C	10s	10s	10s
23 cycles	55°C	10s	10s	10s
	72°C	30s	1min	2min
末延伸	72°C	2min	2min	2min

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 T_M 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)。(3) 95°C 热启动 5min 是该酶的必须步骤, 不能随意删除或缩减时间。

使用注意事项 (必读)

(1) 该酶尤其适用于多重扩增和定量 PCR (染料法和 TaqMan 探针法均适用), 其是已知的聚合酶中扩增特异性最佳的酶。

(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 2 mM, 但在 qPCR 扩增时有时需要提高到 3.5 mM。

(4) 经 HaiGene 测试, 使用该制品可能进行冻干 PCR 的生产。