

【产品概述】

本产品由抗 Taq DNA 聚合酶单克隆抗体与 Taq DNA 聚合酶以最佳比例混合，常温条件下充分封闭 Taq DNA 聚合酶的活性位点，进而抑制低温条件下由于引物的非特异性退火或引物二聚体的产生而引起的不能扩增、非特异性扩增及检测灵敏度降低等现象。在 PCR 扩增的预变性阶段，抗体加热后迅速变性失活，Taq DNA 聚合酶迅速恢复活性进而可以完成正常扩增。

【产品特点】

- 特异性强：能有效降低 PCR 非特异性扩增，提高扩增成功率及检测灵敏度。
- 稳定性佳：多次冻融以及在室温保存一定时间仍能保持稳定的抗体封闭性能及聚合酶活性。

【产品组分】

组分		M3HS01-01 (100 U)	M3HS01-02 (500 U)
HotStart Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	●	20 μL	100 μL
2× HotStart Taq PCR Buffer	●	1 mL	5×1 mL

【储存和运输】

冰上运输，-20℃避光保存；避免反复冻融。产品有效期 12 个月。

【实验操作】

1. 于 2-8℃完全融化 PCR 反应所需各种试剂并充分混匀，参考下表设置 PCR 反应体系：

组分		推荐用量	推荐终浓度
HotStart Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	●	0.2 μL	1 U/20 μL
2× HotStart Taq PCR Buffer	●	10 μL	1×
Forward Primer (10 μM)		0.2-2 μL	0.1 - 1.0 μM
Reverse Primer (10 μM)		0.2-2 μL	0.1 - 1.0 μM
Template DNA		Variable	-
ddH ₂ O		up to 20 μL	-



2. 参考下表设置的 PCR 扩增程序：

步骤	温度	时间	循环数
Pre-denaturation	95°C	3 min*	1
Denaturation	95°C	15 sec	
Annealing	60°C**	15 sec	30-35
Extension	72°C	1 min/kb	
Extension	72°C	5 min	1

*该预变性条件适合大多数扩增反应。若模板结构复杂，可将预变性时间延长至 5 - 10 min 以提高预变性效果；

**根据引物 Tm 值适当调整退火温度。一般设置成低于引物 Tm 值 3 ~ 5°C 即可，对于复杂模板，可以通过调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

【注意事项】

反应液可在室温下配置，请将所有试剂置于冰上。引物设计不佳是 PCR 过程中最常见的问题。请选择适当的引物设计软件进行引物设计，注意引物的 GC 含量、二级结构、二聚体、退火温度、特异性等方面的问题。

1. 引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
2. 引物 3'端应避免出现发夹结构；
3. 引物的 GC 含量控制在 40% - 60%之间；
4. 正引物和反向引物的 Tm 值相差不超过 1°C 为佳，Tm 值调整至 55 ~ 65°C 为佳；
5. 引物 A、G、C、T 整体分布要尽量均匀，避免使用 GC 或者 AT 含量高的区域；
6. 引物内或者两条引物间避免有 5 个碱基以上的互补序列，3'端避免有 3 个碱基以上的互补序列；
7. 引物设计完毕请使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

