

产品说明

本酶为 HotStart LATAq DNA 聚合酶，需 95 度加热 5 分钟或 98 度加热 2 分钟而激活。LATAq DNA 聚合酶在Taq酶的基础上进行了基因工程改造，含有一段双链DNA结合蛋白，可以显著提高聚合酶的延伸能力和延伸速度。因此，LATAq DNA聚合酶非常适合于扩增长片段DNA，**扩增片段的长度可达 5-8 kb，延伸速度为 3-4 kb/ min（72℃）**。本酶是大肠杆菌重组表达的DNA 聚合酶，分子量为 107 kDa。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，较弱的 5'→3'外切酶活性；无 3'→5' 外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 尾巴。

活性定义

以大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，将 10 nmole 脱氧核糖核苷酸掺入到酸不溶物中所需的酶量，定义为一个活性单位（U）。

浓度：5U/μl

保存条件：-20℃保存

特点

- 本酶为热启动聚合酶，可提高扩增的特异性，减少非特异性扩增和引物二聚体；
- **经特殊改造，扩增能力强，4kb/min 延伸条件下可有效扩增 3-5kb 的 DNA 片段；**
- 酶的热稳定性有一定程度提高，可以采用 98 度 2 分钟预变性；
- 可在 60-72 度下进行两步法 PCR，缩短整个 PCR 时间。
- PCR 产物具有 3'-dA 尾巴，可直接用于 T/A 克隆；
- 可以掺入 dUTP、dITP、荧光标记核苷酸。

适用范围

- 热启动 PCR 扩增
- Multiplex PCR
- 菌落PCR
- TA 克隆 PCR 产物添加 3'-dA
- DNA 荧光标记

产品包装规格及组成

Component	AE0107A/ AE0108A*	AE0107B/ AE0108B*	AE0107C/ AE0108C*	AE0107D/ AE0108D*
HS LATAq DNA polymerase	250U	250U×5	1250U×4	2500U×5
10×LATAq Buffer	0.5 ml×1	1.0 ml×3	5.0 ml×2	5.0 ml×5
2 mM dNTPs	-/0.5 ml×1	-/1.0 ml×3	-/5.0 ml×2	-/5.0 ml×5

*附带 2mM dNTP 混合物。

质量控制

相关测试表明无外源内切酶或外切脱氧核糖核酸酶污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。室温放置一周，扩增活性无明显改变；但强烈建议不要在室温下长期放置，用毕放回-20 度。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Nonidet P40, 0.5% Tween 20, and 50% glycerol.

应用举例

注：以下反应举例为 50 μ l 标准 PCR 体系，仅供参考。实际 PCR 条件应根据模板、引物、目的片段大小加以优化，确定最佳反应条件。

组份	体积/ μ l	终浓度
10 $\times$ LATaq Buffer	5	1 $\times$
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物 F (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
引物R (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
Template	Variable*	/
HS LATaq (5U/ μ l)	0.5	2.5U
ddH ₂ O	Variable	/
总体积	50	/

*DNA template 可参照如下标准 (50 μ l PCR 体系)：

人类基因组 DNA	0.1 μ g-1 μ g
λ DNA	0.5 ng-5 ng
质粒 DNA	0.01 ng-1 ng
大肠杆菌 DNA	10 ng-100 ng

PCR 反应条件

95 $^{\circ}$ C	5 min	
95 $^{\circ}$ C	15 sec	
55~72 $^{\circ}$ C	20 sec	30 Cycles
72 $^{\circ}$ C	30s/kb	
72 $^{\circ}$ C	3 min	

注意事项

- 本酶为热启动 LATaq DNA 聚合酶，需 95 度加热 5 分钟或 98 度加热 2 分钟而激活；因此有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增和引物二聚体，得到良好的PCR 结果。
- LATaq DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的腺嘌呤。
- 对非热启动酶而言，建议在冰上配置 PCR 反应液后，再放入 PCR 仪中进行扩增。这有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增，得到良好的PCR 结果。
- 碱基出错率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。LATaq DNA 聚合酶的碱基错误率为 1×10^{-5} 。
- 如进行 PCR 扩增后，除目的条带外，还伴随其他杂带，建议提高退火温度，或进行梯度退火，确定最佳退火温度；同时可以适当减少体系中的 LATaq 酶用量，以增加 PCR 扩增反应的特异性。
- 本公司 Buffer 经大量 PCR 反应实例优化而成，然而对某些PCR 反应存在一个最优的镁离子浓度。若需要优化镁离子浓度，请购买本公司不含镁离子的 buffer 和 $MgCl_2/MgSO_4$ 。

警告: 本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。