

Premix LA Taq[®]

Hot Start Version

使用说明书

TaKaRa Code: D337A

● 包装量: 500 μ l \times 3 支。

● 制品说明

本制品是PCR反应用的DNA Polymerase、Buffer、dNTP Mixture的 2 倍浓度的混合物。使用时，只要加入Template和Primer，便可以进行PCR反应，大大地简化了操作过程，减少了PCR操作过程中的污染。本制品使用的 *TaKaRa LA Taq*[®] HS是抗 *Taq* 抗体和 *TaKaRa LA Taq* 的混合制品，适用于Hot Start PCR。高温变性前，抗 *Taq* 抗体与 *LA Taq* 酶结合，抑制聚合酶活性，能在低温条件下抑制引物的非特异性退火及引物二聚体等非特异性扩增。抗 *Taq* 抗体在PCR反应最初的DNA变性步骤中变性，无需特殊的失活处理，在常规PCR反应条件下即可使用。本制品扩增性能好，保存稳定性强。

使用本制品扩增得到的 PCR 产物的 3' 端附有一个“A”碱基，可直接克隆于 T-Vector 中。。

● Premix 溶液组成

<i>TaKaRa LA Taq</i> HS	2.5 U/25 μ l
dNTP Mixture	2 \times conc.; 各 0.8 mM
LA PCR Buffer II	2 \times conc.; 5 mM Mg ²⁺

● 保存温度: -20 $^{\circ}$ C

4 $^{\circ}$ C 保存一个月制品性能稳定，使用频率高时一旦融解后请于 4 $^{\circ}$ C 保存，使用时请颠倒混匀。尽量避免多次反复冻融。

● 用 途

PCR 法扩增 DNA。

● PCR 反应性能

- 1) 以 λ DNA 为模板，可以很好地扩增 28 kbp 的 DNA 片段。
- 2) 以人基因组 DNA 为模板，可很好地扩增 17.5 kbp (β -Globin gene) 的 DNA 片段。

● PCR 反应液配制

<i>Premix LA Taq Hot Start</i>	25 μ l
模板*	X μ l
引物 1 (20 μ M)	1 μ l
引物 2 (20 μ M)	1 μ l
灭菌蒸馏水	Up to 50 μ l

*【50 μ l PCR 反应体系中模板 DNA 推荐用量】

人基因组 DNA	0.1 μ g~1 μ g
大肠杆菌基因组 DNA	10 ng~100 ng
λ DNA	0.5 ng~5 ng
质粒 DNA	0.1 ng~10 ng

● PCR 反应条件

3 Step PCR

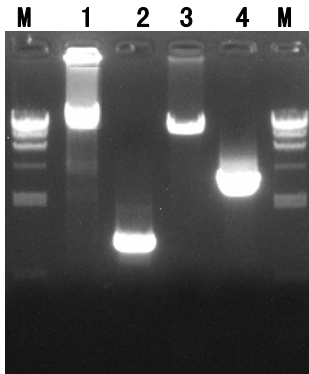
98 $^{\circ}$ C	10 sec	} 30 Cycles
55 $^{\circ}$ C or 60 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	1 min/kbp	

2 Step PCR

98 $^{\circ}$ C	10 sec	} 30 Cycles
68 $^{\circ}$ C	1 min/kbp*	

注) PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况, 设定最佳的反应条件(温度、时间等)。

● 实验例结果



1% Agarose gel 5 μ l 电泳结果

M: λ -*Hind* III digest DNA Marker*

1: λ DNA 28 kbp PCR 产物

2: λ DNA 1 kbp PCR 产物

3: Human DNA 17.5 kbp PCR 产物

4: Human DNA 3 kbp PCR 产物

*: TaKaRa Code: D3403A

● 注意事项

PCR 的反应液请在冰中配制, 然后置于 PCR 反应仪上进行 PCR 反应。这种冷启动法(Cool Start Method)可增强 PCR 扩增的特异性, 减少 PCR 过程中的非特异性反应, 能得到良好的 PCR 结果。