



FastStar DNA Polymerase

目录号：CW2677S (500 U)
CW2677M (2500 U)

保存条件：-20℃

产品内容

Component	CW2677S	CW2677M
	500 U	2500 U
FastStar DNA Polymerase, 5 U/μl	100 μl	5×100 μl
10×PCR Buffer	1.8 ml	5×1.8 ml

注意：本产品的10×PCR Buffer中含有15 mM镁离子。

产品简介

FastStar DNA Polymerase是抗Taq酶单克隆抗体和CW0680 Taq DNA Polymerase的混合制品，适用于Hot Start PCR。使用Taq酶抗体进行PCR扩增时，高温变性前由于Taq酶抗体与Taq酶结合抑制DNA聚合酶活性，能够在低温条件下有效抑制引物的非特异性退火及引物二聚体引起的非特异性扩增。Taq酶抗体在PCR反应最初的DNA变性步骤中变性，DNA聚合酶活性恢复，达到热启动效果。使用本品无需特殊地对Taq酶抗体失活处理，可以在常规PCR反应条件下使用。

FastStar DNA Polymerase具有5'→3' DNA聚合酶活性和5'→3'外切酶活性，无3'→5'外切酶活性，酶延伸速度2 kb/min，可以扩增长度达5 kb的片段。扩增得到的PCR产物3'端附有一个“A”碱基，因此可直接用于T/A克隆。本产品具有延伸速度快、扩增效率高的特点，主要适用于PCR法扩增DNA片段、DNA序列测定等实验。

活性定义

用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，在74℃，30分钟内，将10 nmol脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为1个活性单位（U）。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE检测其纯度大于99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因。

使用方法

以下举例为以人基因组DNA为模板，扩增1 kb的片段的PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ l反应体系	终浓度
10 \times PCR Buffer	5 μ l	1 \times
dNTP Mix, 10 mM each	1 μ l	200 μ M each
Forward Primer, 10 μ M	2 μ l	0.4 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	2 μ l	0.4 μ M
Template DNA	<0.5 μ g	<0.5 μ g/50 μ l
FastStar DNA Polymerase, 5U/ μ l	0.25-0.5 μ l	1.25-2.5 U/50 μ l
ddH ₂ O	up to 50 μ l	

注意：可以在室温下配制反应液，须将试剂置于冰上。

2. PCR反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	94 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s	} 25-35 个循环
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低5 $^{\circ}$ C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途