



# SuperFastStar DNA Polymerase (exo-)

目录号：CW3305S (500 U)

保存条件：-20±5℃

## 产品内容

Component	CW3305S 500 U
SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) (5U/μL)	100 μL
10×PCR Buffer	1.8 mL

注意：本产品的10×PCR Buffer中含有15mM 镁离子

## 产品简介

SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) 是抗Taq酶单克隆抗体和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。

SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) 具有5'-3'DNA聚合酶活性，无5'-3'外切酶活性和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。在55℃及以下的温度无聚合酶活性释放，95℃加热5s即可使DNA聚合酶活性恢复。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。

## 注意事项

1. SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) 从-20℃取出后，瞬时离心后再使用，此产品可在常温环境中操作，若实验环境温度高于25℃、或者实验时间过长的话，请将酶置于冰上，SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) 可置于-20℃保存至少2年。
2. PCR Buffer置于-20±5℃至少保存2年，若频繁使用可置于2-8℃保存，至少保存1个月。
3. SuperFastStar DNA Polymerase (exo-) 和PCR Buffer严禁反复冻融（建议冻融次数≤10次）。
4. 本产品推荐小份分装使用。

## 质量控制

1. 蛋白纯度：HPLC法检测纯度接近99%。
2. 核酸外切酶残留检测：10 U的原酶和0.6 μg λ-Hind III在37℃下孵育16 h，DNA的电泳谱带不发生变化。
3. 核酸内切酶残留检测：10 U的原酶和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA在37℃下孵育4 h，DNA的电泳谱带不发生变化。
4. RNase残留检测：10 U的原酶和1 μg HeLa细胞总RNA在37℃下孵育1 h，RNA的电泳谱带不发生变化。

## 使用方法

以下举例以人基因组DNA为模板，扩增1 kb的片段的PCR反应条件和反应体系，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 μL 反应体系	终浓度
10×PCR Buffer	5 μL	1×
dNTP Mix, 10mM each	1 μL	200 μM each
Forward Primer, 10 μM	1 μL	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	1 μL	0.2 μM
Template DNA	< 5 μL	< 0.5 μg/50 μL
SuperFastStar DNA Polymerase(exo-) (5U/μL)	0.25-0.5 μL	1.25-2.5U/50 μL
ddH <sub>2</sub> O	Up to 50 μL	

注：可以室温配置反应体系。

### 2. PCR反应程序

试剂	温度	时间	循环
预变性	95℃	5-60 s	1
变性	95℃	5-15 s	} 35-45 cycles
退火/延伸	55-65℃	30 s	

注意：1) 本产品采用的热启动酶需要在95℃下至少孵育5s使酶活化。

2) 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度T<sub>m</sub>低5℃，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度。

3) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定。

4) 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