

产品概述

AceTaq DNA Polymerase是经过化学修饰的Taq DNA Polymerase，在室温下活性被完全封闭，只有经过95°C加热后活性才被释放，可防止在样品准备及反应升温阶段产生非特异扩增和引物二聚体。与基于抗体的热启动Taq酶相比，AceTaq DNA Polymerase活性封闭更彻底，严谨性更高；与现有化学修饰的热启动Taq酶相比，AceTaq DNA Polymerase的激活时间只需要5 min，兼容现有的PCR程序。AceTaq DNA Polymerase配合优化的缓冲体系，可最大程度的减少非特异扩增和引物二聚体，带来极高的灵敏度和特异性，非常适合于从复杂模板中扩增低拷贝基因。PCR产物的3'端带A，可克隆至T载体，并适用于ClonExpress和拓扑克隆试剂盒(C112/C113/C115/C601)。

产品组分

组 分	P401-d1	P401-d2	P401-d3
10 × AceTaq Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1 ml	4 × 1 ml	
dNTP Mix (10 mM each)	200 μl	800 μl	3 × P401-d2
AceTaq DNA Polymerase (5 U/μl)	50 μl	200 μl	

保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输。

适用范围

本产品广泛适用于动物，植物以及微生物等DNA的扩增反应。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，74°C 30 min内，摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位(U)。

注意事项

引物设计

1. 引物3'端最后一个碱基最好为G或者C；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端应避免出现发夹结构；
4. 正向引物和反向引物的T_m值相差不超过1°C为佳，T_m值调整至55 ~ 65°C为佳(引物T_m值推荐使用Primer Premier 5进行计算)；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物T_m值计算；
6. 引物的GC含量控制在40% - 60%之间；
7. 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；
8. 避开引物内部或者两条引物之间有5个碱基以上的互补序列，两条引物的3'端避免有3个碱基以上的互补序列；
9. 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。

实验流程

反应体系

ddH ₂ O	to 50 µl
10 × AceTaq Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 µl
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl
模板DNA ^a	x µl
引物1 (10 µM)	2 µl
引物2 (10 µM)	2 µl
AceTaq DNA Polymerase (5 U/µl) ^b	0.5 µl

a. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 µl反应体系推荐模板使用量：

人基因组DNA	1 - 500 ng
大肠杆菌基因组DNA	1 - 100 ng
λDNA	0.1 - 1 ng
质粒DNA	0.1 - 1 ng

b. 酶量可在0.25 - 1 µl之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量，但有可能使特异性下降。

反应程序

95°C	5 min (预变性) ^a	}	30 - 35 cycles
95°C	30 sec		
55°C ^b	30 sec		
72°C	60 sec/kb		
72°C	7 min (彻底延伸)		

a. 预变性时间至少需要5 min。如扩增不理想，可适当延长95°C预变性时间，最长可至10 min。

b. 退火温度需要根据引物的T_m值进行调整，一般设置成低于引物T_m值3 ~ 5°C即可。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。