天净沙系列

CAT#:240352

低温运输，-20℃保存

天净沙

Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（无 3-5 和 5-3 外切活性）

Taq DNA Polymerase Stoffel Fragment（3-5 exo-，5-3 exo-）

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（无 3-5 和 5-3 外切活性）是一种具有强链置换活性（Strand Displacement）的新型耐热 DNA 聚合酶，它具有下列特点：

1. 具有 5’-3’的聚合酶活性、5’-3’的链置换活性。
2. 无 5’-3’和 3’-5’的外切酶活性，扩增速度为 1 kb/min。
3. 可用于 LAMP、tHDA、RCA 以及 NGS 文库的构建，是 PCDR(Polymerase Chain Displacement Reaction）的最佳用酶。
4. 可耐受 95℃的高温，在 72℃具有最佳活性。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成 份	编 号	规 格	包装材料
Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）	240352a	50 μL	0.5 mL 紫盖管
10× Taq DNA 聚合酶 Buffer1（无 Mg2+）	240352b	1.5 mL	1.5 mL 蓝色管
10× Taq DNA 聚合酶 Buffer2（无 Mg2+）	240352c	1.5 mL	1.5 mL 蓝色管
100 mM Mg2+	240352d	1.0 mL	1.0 mL 红色管
使用手册	240352sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存、有效期 2 年。

自备试剂

模版 DNA、引物、ddH2O、dNTP Mixture (10 mM)等

使用方法

一、试剂说明：

1. 10× Taq DNA 聚合酶 Buffer1 适合 LAMP、10× Taq DNA 聚合酶 Buffer2 适合 PCDR。两者均不含 Mg2+
2. Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段(10 U/μL)储存 Buffer：10 mM Tris-HCl，pH 8.0，150 mM NaCl，2 mM DTT，50% Glycerol。

二、PCDR 扩增

3. 在 PCDR 扩增时，Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）的使用浓度为 0.04 U/μL，必要时可在 0.02-0.08 U/μL 之间调整。在 PCDR 扩增时推荐的 Mg2+浓度为 1.5 mM（必要时可调整到 3.5 mM）。

成份	用量

10× Taq DNA 聚合酶 Buffer2（无 Mg2+）	5 μL
Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段 (10 U/μL)	0.2 μL
100 mM Mg2+	0.75 μL
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μL
Inner Primer each (10 μM)	0.5 μL
Out Primer each (10 μM)	0.25 μL
模板 DNA	x μL
ddH2O	up to 50 μl

4. 扩增循环参数：

循环数	温度	时间
1 Cycle	95℃	2 min
25-35 Cycle	95℃	10 sec
	50-60℃	10 sec
	72℃	1 kb/min
Last Cycle	72℃	2 min

三、LAMP 扩增应用

5. 10× LAMP Primer: 16 μM FIP/BIP; 4 μM LPF/B; 2 μM F3/B3。

6. 在使用 Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）进行 LAMP 扩增时，推荐的酶浓度为 0.4 U/μL。推荐的 Mg2+为 6 mM。

成份	用量
10× Taq DNA 聚合酶 Buffer1（无 Mg2+）	2.5 μL
Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段 (10 U/μL)	1 μL
100 mM Mg2+	1.5 μL
dNTP Mixture (10 mM each)	1.25 μL
10× LAMP Primer	2.5 μL
模板 DNA	x μL
ddH2O	up to 25 μl

7. LAMP 扩增参数：

变性后恒温扩增		
预变性（可选）	95℃	2 min
恒温扩增	70℃	30-60 min

四、注意：

8. 在使用 Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）进行 LAMP 扩增时，由于 Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）的耐热性远高于 Bst 系列的聚合酶，因此允许在恒温扩增前，采用高温（95℃）下的变性步骤。这一特性有助于粗样本的裂解，更有效的释放核酸。
9. 在恒温扩增阶段，通常建议的反应温度为 70℃，在 65℃时扩增效率大幅下降。通常 Taq DNA 聚合酶 Stoffel 片段（10 U/μL）进行 LAMP 扩增时的速度和灵敏度低于 Bst 系列酶。

关联产品	Bst 2.0 DNA 聚合酶 8 U/μL