

Taq DNA Polymerase 使用说明书

产品编号: SL2601

规格: 1000U

保存: -20 度保存, 有效期 2 年。

产品说明:

为重组 E. coli 菌株,其基因组中含有来源于 Thermusaquaticus YTI 中克隆的 Taq DNA polymerase 基因。本产品是一种热稳定性酶,分子量大约为 94kDa。它与天然 Tag DNA 聚合酶有相同的功能。在 Mg^{2+} 存在的条件下可催化核苷酸沿 5'→3'方向发生聚合反应,形成双链 DNA;同时它还具有 5'→3'外切酶活性。使用本品扩增得到的 PCR 产物的 3'端附有一个"A"碱基,因此可直接克隆于 T-Vector 中。

产品内容:

| Components | SL2601-1000U |
|---|--------------|
| Taq DNA Polymerase (5U/ μ L) | 200 μ L |
| 10×Taq DNA Polymerase Buffer I (with $MgCl_2$) | 2×1.5 mL |
| 6× Loading Buffer | 1mL |
| dNTPs (2.5mM) | 2×1mL |
| 说明书 | 1 份 |

活性定义:

在 74°C条件下,30 分钟内催化 10nmol 的 dNTP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为一个活性单位。

贮存条件:

20 mM Tris-HCl (pH 8.0, 25°C), 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.5% NP-40, 0.5% Tween-20, 50%Glycerol

反应条件:

50mM KCl, 10 mM Tris-HCl (Ph8.6, 25°C), 0.1% Triton X-100, 1.5mM $MgCl_2$.

质量保证:

本品经 PCR 验证，活性测定，内切核酸酶/缺刻酶测定和 SDS-PAGE 纯度鉴定。保证产品的质量稳定可靠。

使用注意：

除了酶活性丧失外，下列因素也可能导致扩增失败：(1) 模板太多或太少；(2) 样品中存在 Mg^{2+} 络合剂，导致 Mg^{2+} 实际浓度过低；(3) PCR 仪温度不准；(4) 临床来源的样品中含有未知的 Taq 酶抑制剂；(5) 引物部分降解；(6) dNTP 部分降解；(7) Taq 酶用量太大等。

建议：每 50 微升反应体系中，酶用量为 0.5-1 微升最好，酶量少可能扩增效率低下，使用时请注意！

用途：

- 1) 常规 PCR 鉴定。
- 2) 小片段目标基因克隆（推荐小于 500bp）。
- 3) 标记 DNA 3'-末端。
- 4) 平端 PCR 产物加“A”。

建议反应体系：

| | | | |
|---|---------------------------|----------|--------|
| 1 | 10× Taq Buffer | 5 µl | 1× |
| 2 | dNTPs (2.5mM) | 4 µl | 0.4 mM |
| 3 | upstream primer (10 µM) | 2 µl | 0.4 µM |
| 4 | downstream primer (10 µM) | 2 µl | 0.4 µM |
| 5 | Taq DNA 聚合酶 (5U/µl) | 0.5 µl | 2.5U |
| 6 | template DNA | 1-4 µl | <1µg |
| 7 | 超纯水 ^[5] | To 50 µl | - |

建议 PCR 程序：

| Stage | Temperature | Time | Number of Cycles |
|----------------------|------------------------|-------------------------|------------------|
| Initial Denaturation | 94°C | 3 min | 1 |
| Denaturation | 94°C | 30 sec | 25-35 |
| Annealing | 55-68°C ^[1] | 30 sec | |
| Extension | 72°C | Variable ^[2] | |
| Final Extension | 72°C | 5-10 min | 1 |

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 1min/kb 来设最佳（简单模板可达 10s/kb）。