

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 μ l	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μ l	0.4 mM
3	upstream primer (10 μ M)	2 μ l	0.4 μ M
4	downstream primer (10 μ M)	2 μ l	0.4 μ M
5	Taq DNA 聚合酶 (5U/ μ l)	0.5 μ l	2.5U
6	template DNA	1-4 μ l	<1 μ g
7	超纯水 ^[5]	To 50 μ l	-

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）。