

Taq DNA Polymerase (Mg²⁺ plus Buffer)

产品信息

产品名称	产品编号	产品规格
Taq DNA Polymerase	E10101	250U
	E10102	1000U

产品说明

本产品由克隆有Thermus aquaticus DNA Polymerase基因的大肠杆菌表达并经过多步纯化得到, 不含核酸内切酶、核酸外切酶以及细菌DNA。Taq DNA Polymerase具有5'→3'聚合酶活性和5'→3'外切酶活性, 但无3'→5'外切酶活性。PCR产物的3'端带A, 可克隆至T载体。

产品组分

组分	E10101(250U)	E10102(1000U)
10×Taq Buffer	250μl	
dNTP Mix (2 mM each)	250μl	4×E10101
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	50μl	

产品应用

本产品适用于PCR法扩增动物、植物以及微生物等DNA。

活性定义

用活性化的大马哈鱼精子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)。

质量控制

- 核酸外切酶残留检测: 10 U 本酶和0.5 μg λDNA-Hind III, 37°C下反应4 h, DNA 的电泳谱带无变化。
- 切口酶残留检测: 10 U 本酶和0.5 μg PBR322 质粒, 37°C下反应4 h, DNA 的电泳谱带无变化。
- RNase 残留检测: 10 U 本酶和0.5 μg 293T 细胞总RNA, 37°C下反应1 h, RNA 的电泳谱带无变化。

保存方法

-20°C保存, 有效期2年。

注意事项

由于Taq DNA Polymerase在室温下也有一定的反应活性, PCR反应体系请在冰上进行配制, 这样可以减少在反应准备阶段发生的非特异扩增, 有助于得到高特异性的扩增结果。



PCR 反应体系

分组	体积 (ul)	浓度
10×Taq Buffer	5	1×
dNTP Mix (2mM each)	5	0.2mM
模板DNA	<500ng	-
引物1(10 μM)	2	0.4μM
引物2(10 μM)	2	0.4μM
Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	1	0.1 U/μL
ddH ₂ O	To 50	-

- 不同模板最佳反应浓度不同, 下表为50 μl反应体系推荐模板使用量:

模板种类	模板用量
动植物基因组DNA	0.1 - 1 μg
大肠杆菌基因组DNA	10 - 100 ng
质粒DNA	1 - 5 μl(不超过PCR反应总体积的1/10)
cDNA	0.1 - 10 ng

- 酶量可在0.25 - 1 μl之间优化, 加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量, 但有可能会使特异性下降。

PCR 反应条件

温度	时间	循环数
95°C	3min(预变性)	} 30-35
95°C	15sec	
55°C	15sec(退火)	
72°C	60sec/kb	
72°C	5min	

- 该预变性条件适合绝大多数扩增反应, 可根据模板结构复杂程度修改。质粒DNA等简单模板为30 sec; cDNA、基因组DNA等复杂模板为3 min; 高GC含量模板为5-10 min。
- 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; 对于复杂模板, 设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度来实现高效扩增。

