

## Taq DNA 聚合酶

货号: P1011, P1012, P1013, P1014, P1015

### 产品简介

Taq DNA 聚合酶是嗜热性细菌 *Thermus aquaticus* 来源的热稳定重组型 Taq DNA 聚合酶, 分子量为 94 KD。扩增片段的长度可达 10 kb (简单模板)。延伸速度为 30s/kb (70~75°C, 简单模板可达 10s/kb)。该酶具有 5'→3'聚合酶活性, 无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA, 可直接用于 TA 克隆。

### 产品组成

Component	P1011	P1012	P1013	P1014	P1015
	500U	500U	1,000U	1,000U	12,000U
Taq DNA 聚合酶 (5U/μl) <sup>[1]</sup>	100 μl	100 μl	200 μl	200 μl	100 μl × 24
Taq DNA 聚合酶 (2.5U/μl) <sup>[1]</sup>	200 μl	200 μl	400 μl	400 μl	200 μl × 24
10× Taq Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) <sup>[2]</sup>	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 2	1.25 ml × 24
10× Tpol Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) <sup>[2]</sup>	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 2	1.25 ml × 24
6× Loading Buffer <sup>[3]</sup>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	-
dNTPs (2.5mM) <sup>[4]</sup>	-	1 ml	-	1 ml × 2	-

[1] 提供 5U/μl 和 2.5U/μl 两种活性单位的包装可供选择, 如无特别说明默认 5U/μl。

[2] 10× Taq Buffer 和 10× Tpol Buffer 分为 Mg<sup>2+</sup> Plus 与 Mg<sup>2+</sup> Free 两种包装可供选择, 如无特别说明默认 Mg<sup>2+</sup> Plus。Mg<sup>2+</sup> Free 的 Taq Buffer 和 Tpol Buffer 提供 25mM MgCl<sub>2</sub>。Taq Buffer 能满足大多数常规 PCR 反应, 优先使用此 Buffer。Tpol Buffer 对于提高 PCR 特异性有显著作用。

[3] P1015 不含 6× Loading Buffer, 如有需要请单独购买 (Cat. #: M9041)。

[4] dNTPs 是 dATP、dGTP、dCTP 和 dTTP 等摩尔混合物, P1011/P1013/P1015 不含 dNTPs, 如有需要请单独购买 (Cat. #: P9011/P9012/P9013)。

### 活性定义

一个活性单位 (U) 指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 72°C、30 min 内, 摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

### 保存条件

-20°C 保存 2 年。

### 质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

### 应用举例

#### 1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	10× Taq Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus) <sup>[1]</sup>	5 μl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μl	0.4 mM
3	upstream primer (10 μM) <sup>[2]</sup>	2 μl	0.4 μM
4	downstream primer (10 μM) <sup>[2]</sup>	2 μl	0.4 μM
5	Taq DNA 聚合酶 (5U/μl) <sup>[3]</sup>	0.5 μl	2.5U
6	template DNA <sup>[4]</sup>	1-4 μl	<1μg
7	超纯水 <sup>[5]</sup>	To 50 μl	-
optional	MgCl <sub>2</sub> (MgSO <sub>4</sub> )/PCR Enhancer <sup>[6]</sup>	Variable	-

[1] Taq Buffer 能满足大多数常规 PCR 反应, 优先使用此 Buffer。若要提高特异性可使用 Tpol Buffer。

[2] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[3] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

[4] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50  $\mu$ l 反应体系）。

Template	Dosage
人类基因组 DNA	0.1 $\mu$ g-1 $\mu$ g
$\lambda$ DNA	0.5ng-5ng
大肠杆菌基因组 DNA	10ng-100ng
质粒 DNA	0.1ng-10ng

[5] 可单独订购超纯水（Cat. #: P9021/P9022/P9023）。

[6] 可单独订购 25mM MgCl<sub>2</sub>（Cat. #: P9031）和 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）。

## 2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94 $^{\circ}$ C	3 min	1
Denaturation	94 $^{\circ}$ C	30 sec	25-35
Annealing	55-68 $^{\circ}$ C <sup>[1]</sup>	30 sec	
Extension	72 $^{\circ}$ C	Variable <sup>[2]</sup>	
Final Extension	72 $^{\circ}$ C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 30s/kb 来设最佳（简单模板可达 10s/kb）。

## 3. 分析结果

将产物与 loading buffer 混匀后进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl<sub>2</sub>（Cat. #: P9031）等可提高产量。

## 操作注意事项

1 室温下 Taq DNA 聚合酶有一定的活性，为避免发生非特异性扩增，请于冰上配置反应体系，并且最后添加 Taq DNA 聚合酶或模板 DNA。

2 Taq DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷，可直接用于 TA 克隆。也可以使用 Taq DNA 聚合酶进行加 A 反应。

3 碱基错误率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。Taq DNA 聚合酶的碱基错误率为  $1 \times 10^{-5}$ 。

## 引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65 $^{\circ}$ C 之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。