

克
必
隆
系
列

CAT#:90501-250
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

Tth DNA 聚合酶

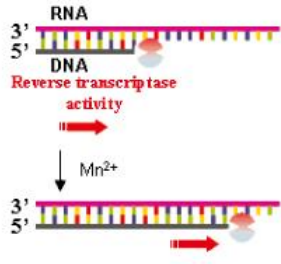
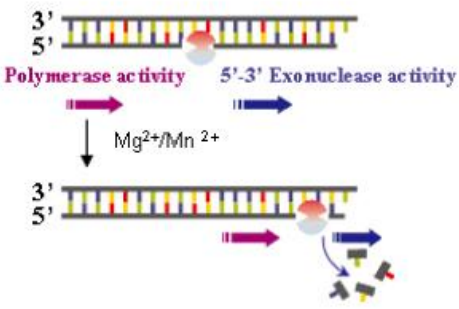
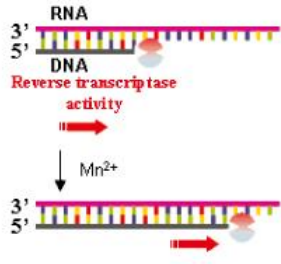
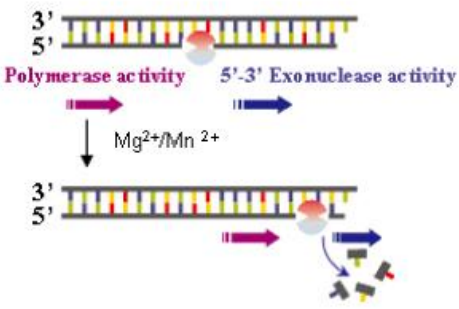
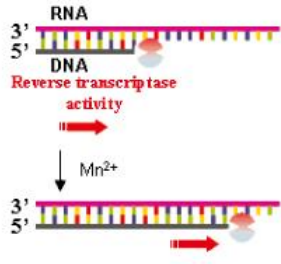
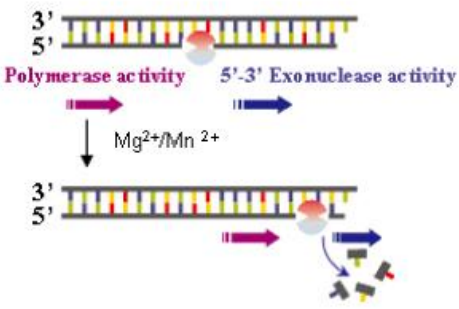
Tth DNA Polymerase

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本酶来源于嗜热菌 <i>Thermus thermophilus</i> HB8。在有 Mg^{2+} 等二价阳离子存在的情况下,具有 DNA 多聚酶活性。它与 Taq 酶一样被广泛用于 PCR 反应,但耐热性比 Taq 酶高,因此对高 GC 含量模板的 PCR 也有较好的效果。本酶基本上没有 3'→5'外切酶活性及 5'→3'外切酶活性,所以也可用于双脱氧法测序。另外,本酶具有 RTase 活性,在 Mn^{2+} 存在的情况下,RTase 活性会得到强化。利用该特性,可以用来在同一管中进行逆转录反应和 PCR 反应,即一步法 RT PCR。(但是,在 Mn^{2+} 存在时,RT-PCR 的准确性不高)此外,本酶与 Taq DNA 多聚酶一样,PCR 产物可通过 T 载体进行 TA 克隆。它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. RT-PCR 反应的特异性增加: 在较高的温度下进行逆转录,增加了引物杂交和延伸的特异性。 2. 二级结构减少: 在较高的温度下进行逆转录,减少了由于 RNA 二级结构引起的问题。 <table border="1" data-bbox="483 952 1414 1391"> <tr> <td data-bbox="483 952 866 1014">Tth DNA 聚合酶的逆转录酶活性</td> <td data-bbox="866 952 1414 1014">Tth DNA 聚合酶的 DNA 聚合酶和 5-3 外切活性</td> </tr> <tr> <td data-bbox="483 1014 866 1391">  </td> <td data-bbox="866 1014 1414 1391">  </td> </tr> </table>	Tth DNA 聚合酶的逆转录酶活性	Tth DNA 聚合酶的 DNA 聚合酶和 5-3 外切活性										
Tth DNA 聚合酶的逆转录酶活性	Tth DNA 聚合酶的 DNA 聚合酶和 5-3 外切活性												
													
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="563 1429 1297 1686"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>250U 包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tth DNA 聚合酶(5U/μL)</td> <td></td> <td>50μL</td> </tr> <tr> <td>10×Tth Buffer</td> <td></td> <td>1mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>90501sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	250U 包装	Tth DNA 聚合酶(5U/ μ L)		50 μ L	10×Tth Buffer		1mL	使用手册	90501sc	1 份
成份	编号	250U 包装											
Tth DNA 聚合酶(5U/ μ L)		50 μ L											
10×Tth Buffer		1mL											
使用手册	90501sc	1 份											
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输, -20℃保存, 有效期一年。</p>												
<p>使用方法</p>	<p>以λDNA 为模板, 以 10×Tth Buffer (+ $MgCl_2$)作为缓冲液进行体积为 50 μL 的 PCR 扩增反应为例</p> <p>1.按下列组份配制 PCR 反应液。</p> <table border="1" data-bbox="563 2004 1332 2051"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>终浓度</th> <th>用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	成份	终浓度	用量									
成份	终浓度	用量											

Tth DNA 聚合酶(5U/ uL)	1.25U	0.25 uL
10×Tth Buffer (+MgCl ₂)	1X	5 uL
dNTP Mixture (各 2.5 mM)	各 0.2 mM	4 uL
模板 DNA	50 pg-1 ug	详见下表
引物 1 (10 uM)	0.1-1 uM	最多到 1 uL
引物 2 (10 uM)	0.1-1 uM	最多到 1 uL
灭菌蒸馏水		加到 50 uL

推荐 50 uL PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量

哺乳动物基因组 DNA	0.5-1 ug
酵母基因组 DNA	5-500 ng
细菌基因组 DNA	0.5-50 ng
质粒 DNA	5-500 pg
PCR 回收片段	1-100 pg

2.PCR 反应条件

以λDNA 为模板，扩增 1 kbp 的 DNA 片段的 PCR 反应条件如下：

95°C	3 min	
95°C	30 sec.	} 30-35cycles
55°C	30 sec.	
72°C	2 min.	
72°C	5 min	

注：PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况，设定最佳的反应条件（温度、时间等）。

注意事项

1. 循环测序

该酶为耐热性酶，可通过与 PCR 同样的温度条件进行测序反应。由于其高温稳定性好，对于复杂高级结构的模板效果较好。

2. 引物

用于耐热性酶测序的引物需比用于非耐酶测序的引物设定更长的时间。采用较短的引物时，可能会出现不能获得条带变淡的情况。

相关资料一: 10×Tth Buffer (+ MgCl₂)成分

成份	浓度
Tris-HCl(pH8.9 at 25 °C)	100 mM
KCL	800 mM
MgCl ₂	15 mM
Triton X- 100	1%
BSA	5mg/mL
胆酸钠	1%

二: Tth Storage Buffer 成分

成份	浓度
Tris-HCl(pH7.5 at 25 °C)	10 mM
KCl	300 mM
DTT	1 mM
EDTA	0.1 mM
Triton X- 100	0.1%
BSA	500µg/mL
甘油	50%

关联产品

双酶一管式 RT-PCR 试剂盒 (CAT#: 91202)