

克
必
隆
系
列

CAT#:51206-500
CAT#:51206-5000
低温运输, -20℃保存



Taq DNA 聚合酶

Taq DNA Polymerase

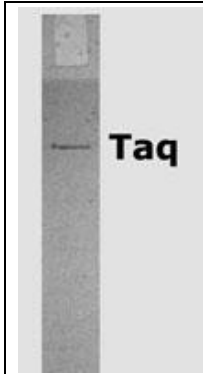
使用手册 V1.2

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

产品及特点	本产品是 <i>Thermus aquaticus</i>（水生栖热菌）的 DNA 聚合酶基因在 <i>E. coli</i> 中表达而得,具有以双链 DNA 为模板的 5'→3'聚合酶活性和 5'→3'外切酶活性。Taq DNA 聚合酶长为 832 个氨基酸，分子量为 94 Kd。该酶可以广泛用于 PCR，RT-PCR，加尾反应等。 1. 耐热 DNA 聚合活性，该酶在 90℃以上几乎无 DNA 合成，在 75~80℃时延伸率约 150 个核苷酸，70℃时为 60 个核苷酸/秒，55℃时为 24 个核苷酸/秒。在 65~68℃并有 Mn²⁺存在时还具有逆转录活性。 2. 热稳定，在 PCR 混合物中 95℃保温 40 分钟仍可保持 50%的活性。 3. Mg²⁺离子依赖性，MgCl₂ 浓度在 2.0 mM 时该酶催化活性最高。 4. 本酶无 3'→5'外切活性，不具 3'→5'校对功能，碱基错配机率为 2.1×10⁻⁴。				
规格及成分	成 份	编 号	500 U 包装 (51206-500)	5000 U 包装 (51206-5000)	
	Taq DNA 聚合酶 (5 U/μL)	51206A	100 uL	1 mL	
	10×PCR Buffer (含 Mg ²⁺)	51206B	1 mL	10 mL	
	MgCl ₂ , 25 mM	51206C	1 mL	1 mL	
	使用手册	51206sc	1 份	1 份	
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。				
使用方法	以λ DNA 为模板进行 PCR 扩增反应为例				
	1.按下列组份配制 PCR 反应液。				
	Taq DNA 聚合酶(5U/ uL)		0.25 uL		
	10×PCR Buffer(含 Mg ²⁺)		5 uL		
	MgCl ₂ (25 mM)		根据需要补加		
	自备 dNTP（各 2.5 mM）		4 uL		
	模板 DNA		见下		
	引物 1（20 uM）		1 uL		
	引物 2（20 uM）		1 uL		
	灭菌蒸馏水		Up to 50 uL		
注：10×PCR Buffer 含 15 mM MgCl ₂ (在 PCR 体系中的终浓度为					

	1.5 mM)，是否需要补加 MgCl₂ 根据实验决定。但一般不需要补加。 推荐 50 uL PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量 <table><tr><td>哺乳动物基因组 DNA</td><td>0.5-1 ug</td></tr><tr><td>酵母基因组 DNA</td><td>5-500 ng</td></tr><tr><td>细菌基因组 DNA</td><td>0.5-50 ng</td></tr><tr><td>质粒 DNA</td><td>5-500 pg</td></tr><tr><td>PCR 回收片段</td><td>1-100 pg</td></tr></table> 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： <table><tr><td>94℃</td><td>30 sec.</td><td rowspan="3">} 30-35cycles</td></tr><tr><td>55℃</td><td>30 sec.</td></tr><tr><td>72℃</td><td>1 min.</td></tr></table> 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 PCR 的反应液请在冰中配制，然后置于 PCR 反应仪上进行 PCR 反应。这种冷启动法（Cool Start Method）可增强 PCR 扩增的特异性，减少 PCR 过程中的非特异性反应，能得到良好的 PCR 结果。	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	94℃	30 sec.	} 30-35cycles	55℃	30 sec.	72℃	1 min.
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																	
94℃	30 sec.	} 30-35cycles																
55℃	30 sec.																	
72℃	1 min.																	
实验数据	 图注：5 μL 本产品经过 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝染色后的照片。胶上无任何可见的其他蛋白质污染。																	
相关资料	10×PCR Buffer 的组成																	

	10×PCR Buffer(含 Mg²⁺) Tris – HCl (pH8.3)100 mM MgCl₂15 mM KCl500 mM — 活性定义 用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物,在 74℃,30 分钟内,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)。 纯度 1) SDS-PAGE 考马市亮蓝染色无杂带污染。 2) 10U 的本酶和 16S rDNA 引物 PCR 扩增无产物。 质控标准 1. 功能检测,以 λ DNA 为模板,特定引物扩增 2-20 Kb PCR 片段。 2. 核酸内切酶活性检测 (切刻酶活力),在 50 uL 反应缓冲液中,将 20 单位的酶和 1 ug ΦX174 RF I 型 DNA 于 72℃或 37℃条件下共育 4 小时,<5% 的 DNA 转变为 RF II 型。 3. 核酸外切酶活性,在 50 uL 反应缓冲液中,将 20 单位的酶和 1 ug λ DNA/Hind III 消化产物于 72℃或 37℃条件下共育 4 小时,没有观察到明显带型变化。 4. 核酸酶活性检测,在 50 uL 反应缓冲液中,将 1 ug λ DNA 与 20 单位的酶于 72℃保温 16 小时,无明显 DNA 降解发生。
关联产品	PCR MagicMix (CAT#:60307) 即用型 PCR 试剂盒(CAT#:51201)