



Taq DNA Polymerase

目录号：CW0680S (500 U)
CW0680M (2500 U)
CW0680L (10000 U)

保存条件：-20℃

产品内容

Component	CW0680S 500 U	CW0680M 2500 U	CW0680L 10000 U
Taq DNA Polymerase, 5 U/μl	100 μl	5×100 μl	2×1 ml
10×PCR Buffer	1.8 ml	5×1.8 ml	8×5 ml

注意：本产品的10×PCR Buffer中含有15 mM镁离子。

产品简介

Taq DNA Polymerase是通过大肠杆菌表达纯化的重组酶。其基因来源于*Thermus aquaticus* polymerase。该蛋白分子量为94 kDa，具有5'→3' DNA聚合酶活性和5'→3'外切酶活性，无3'→5'外切酶活性，酶延伸速度2 kb/min，可以扩增长度达5 kb的片段。扩增得到的PCR产物3'端附有一个“A”碱基，因此可直接用于T/A克隆。本产品具有延伸速度快、扩增效率高的特点，主要适用于PCR法扩增DNA片段、DNA序列测定等实验。

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，将10 nmol脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为1个活性单位（U）。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE检测其纯度大于99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一个月，无明显活性改变。

使用方法

以下举例为以人基因组DNA为模板，扩增1 kb的片段的PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ l反应体系	终浓度
10 \times PCR Buffer	5 μ l	1 \times
dNTP Mix, 10 mM each	1 μ l	200 μ M each
Forward Primer, 10 μ M	2 μ l	0.4 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	2 μ l	0.4 μ M
Template DNA	<0.5 μ g	<0.5 μ g/50 μ l
Taq DNA Polymerase, 5 U/ μ l	0.25-0.5 μ l	1.25-2.5 U/50 μ l
ddH ₂ O	up to 50 μ l	

注意：引物浓度请以终浓度0.1-1.0 μ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

2. PCR反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	94 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s	} 25-35 个循环
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低5 $^{\circ}$ C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，本产品Taq DNA Polymerase的扩增效率为2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途