

产品简介

Taq Plus DNA Polymerase是Taq DNA Polymerase与一种含有3'→5'外切酶活性(校对活性)的蛋白组成的混合酶,保真度是Taq DNA Polymerase的6倍。对于长度在5 kb以内的目的片段,与Taq DNA Polymerase相比,Taq Plus DNA Polymerase具有更强的扩增性能。一般情况下,使用Taq Plus DNA Polymerase可以得到更高的产量。有些Taq DNA Polymerase不能扩增的片段,Taq Plus DNA Polymerase可以正常扩增。PCR产物的3'端带A,可克隆至T载体,并适用于ClonExpress®快速克隆试剂盒(C112/C113)。

产品组成

组 分	P201-01 250 U	P201-d1 250 U	P201-02/d2 1,000 U	P201-03/d3 3,000 U
10 × Taq Plus Buffer (Mg ²⁺ plus)	1 ml	1 ml	4 ml	
dNTP Mix (10 mM each)	-----	200 μl	± 800 μl	
Taq Plus DNA Polymerase (5 U/μl)	50 μl	50 μl	200 μl	P201-02/d2 × 3

储存条件

-20°C保存。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物,74°C 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)。

质量控制

核酸外切酶残留检测: 10 U的本酶和0.6 μg λ-Hind III在37°C下孵育16小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 10 U的本酶和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

RNase残留检测: 10 U的本酶和1 μg Hela细胞总RNA在37°C下孵育1小时,RNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌DNA残留检测: 10 U本品中残留的核酸经*E. coli* 16s rDNA特异性的TaqMan qPCR检测,*E. coli*基因组残留低于10拷贝。

功能检测: 50 μl PCR体系中加入1.25 U本酶,以20 ng人基因组DNA为模板扩增α-1-antitrypsin gene。30个循环后将1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳,EB染色,可见有单一的1 kb条带。

应用实例

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	to 50 μ l
10 \times Taq Plus Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 μ l
25 mM MgCl ₂ ^a	optional
dNTP Mix (10 mM each)	1 μ l
5 \times PCR Enhancer ^b	optional
模板DNA ^c	optional
引物1 (10 μ M)	2 μ l
引物2 (10 μ M)	2 μ l
Taq Plus DNA Polymerase (5 U/ μ l) ^d	0.5 μ l

a. 对于大多数PCR反应, Mg²⁺最佳终浓度为1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为2 mM的Mg²⁺, 如有需要, 可用25 mM MgCl₂以0.2-0.5 mM为间隔向上摸索Mg²⁺最佳使用浓度。

b. 推荐仅当扩增片段GC含量 > 60%且优化条件也无法正常扩增时使用; 可能会降低保真度。(Vazyme #P021-01)

c. 不同模板最佳反应浓度有所不同, 下表为50 μ l反应体系推荐模板使用量:

人基因组DNA	0.1~1 μ g
大肠杆菌基因组DNA	10~100 ng
λ DNA	0.5~5 ng
质粒DNA	0.1~10 ng

d. 酶量可在0.25-1 μ l之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量, 但有可能使特异性下降。

2. PCR反应条件设置

94°C	5 min (预变性)		
94°C	30 sec	}	30-35 cycles
55°C*	30 sec		
72°C	60 sec/kb		
72°C	7 min (彻底延伸)		

* 退火温度需要根据引物退火温度调整, 一般设置成低于引物退火温度1-2°C即可。

引物设计注意事项

1. 引物3'端最后一个碱基选择C或G;
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配;
3. 引物3'端尽量避免出现发夹结构;
4. 引物Tm值控制在55°C-65°C之间;
5. 引物额外附加序列, 即与模板非配对序列, 不应参与引物Tm值计算;
6. 引物GC含量控制在40%-60%之间;
7. 正向引物和反向引物Tm值以及GC含量尽可能一致。