

Taq DNA Polymerase (Mg²⁺ free buffer)

P102



Version 5.1

Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

本产品由克隆有Thermus aquaticus DNA Polymerase基因的大肠杆菌表达并经过多步纯化精制得到，不含核酸内切酶、核酸外切酶以及细菌DNA。Taq DNA Polymerase具有5'→3'聚合酶活性和5'→3'外切酶活性，但无3'→5'外切酶活性。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	P102-01 1,000 U	P102-d1 1,000 U	P102-02/d2 5,000 U	P102-03/d3 10,000 U
10 × Taq Buffer (Mg ²⁺ free)	4 ml	4 ml		
25 mM MgCl ₂	4 ml	4 ml		
dNTP Mix (10 mM each)	-----	800 μl		
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	200 μl	200 μl	P102-01/d1 × 5	P102-01/d1 × 10

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100 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360 bp条带。

应用实例

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	to 50 μ l
10 \times Taq Buffer (Mg ²⁺ free)	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 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, 即50 μ l反应体系中加入3-4 μ l 25 mM MgCl₂。如有需要, 可用25 mM MgCl₂以0.2-0.5 mM为间隔摸索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)	} 30-35 cycles
94°C	30 sec	
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。

操作注意事项

由于Taq DNA Polymerase在室温下也有一定的反应活性, PCR反应体系请在冰上进行配制, 之后再置于PCR仪上进行反应。这样可以减少在反应准备阶段发生的非特异扩增, 有助于得到高特异性的扩增结果。

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。