# Hieff® Taq DNA Polymerase　DNA聚合酶

## 产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|---|---|
| Hieff® Taq DNA Polymerase　DNA 聚合酶 | 10101ES80 | 1000 U |
| Hieff® Taq DNA Polymerase　DNA 聚合酶 | 10101ES90 | 5×1000 U |

## 产品描述

Hieff® Taq DNA Polymerase 是嗜热性 *Thermus aquaticus* 表达的热稳定重组型 DNA 聚合酶，分子量为 94 KD。具有 5'→3' 聚合酶活性和 5'→3'外切酶活性，无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3′-dA，可直接用于 TA 克隆。

## 产品组分

| 编号 | 组分 | 产品编号/规格 | |
|---|---|---|---|
| | | **10101ES80（1000 U）** | **10101ES90（5×1000 U）** |
| 10101-A | 10×Taq Buffer ($Mg^{2+}$ Free) | 1 mL×4 | 1 mL×20 |
| 10101-B | 25 mM $MgCl_2$ | 1 mL×2 | 1 mL×10 |
| 10101-C | Hieff® Taq DNA Polymerase (5 U/μL) | 200 μL | 200 μL×5 |

## 产品应用

基因型鉴定、菌落 PCR 等常规 PCR。

## 活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74℃，30 min 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：**20 μL 反应体系，10 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III，74℃下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带无变化。

**核酸内切酶残留检测：**20 μL 反应体系，10 U 本品和 0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA，74℃下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带无变化。

**大肠杆菌残留 DNA 检测:** 50 μL 体系中，加入 2 U 本品，以无菌 $ddH_2O$ 为模板，扩增 E.coil 16s rDNA 基因。35 个循环后扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，EB 染色，无扩增条带。

## 运输与保存方法

冰袋运输。-20℃保存，有效期 2 年。

## 注意事项

为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

## PCR 反应体系（冰上配制）

| 组分 | 体积（μL） | 终浓度 |
|---|---|---|
| $ddH_2O$ | to 50 | - |
| 10×Taq Buffer($Mg^{2+}$ Free) | 5 | 1× |
| 25 mM $MgCl_2$ | 3 | 1.5 mM |
| dNTP Mix (10 mM each) | 1 μL | 0.2 mM |
| 模板 DNA | optional | - |
| 引物 1(10 μM) | 2 μL | 0.4 μM |
| 引物 2(10 μM) | 2 μL | 0.4 μM |
| Hieff® Taq DNA Polymerase (5 U/μL) | 0.4 μL | 0.04 U/μL |

【注】：1）**$Mg^{2+}$ 终浓度**：$Mg^{2+}$最佳浓度为 1.5-2 mM，如有需要，可 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索 $Mg^{2+}$最佳使用浓度。

2）**聚合酶添加**：室温下聚合酶有一定程度的 5’-3’聚合酶活性，为了防止非特异性扩增，建议将聚合酶在最后一步加到反应体系中。

3）**聚合酶浓度**：推荐使用 0.04 U/μL。可以在 0.025-0.04 U/ μL 之间进行优化。

4）**不同模板的推荐使用量（50 μL 反应体系）**：

| 模板种类 | 扩增片段 |
|---|---|
| 基因组 DNA | 50 ng～100 ng |
| 质粒 DNA | 10 pg～20 ng |
| cDNA | 1~5 μL（不超过反应体系的 1/10） |

## PCR 扩增程序

| 循环步骤 | 温度（°C） | 时间 | 循环数 |
|---|---|---|---|
| 预变性 | 94 | 30 sec-5 min | 1 |
| 变性 | 94 | 30 sec | 35 |
| 退火 | 50-60 | 30 sec | |
| 延伸 | 72 | 60 sec/kb | |
| 终延伸 | 72 | 10 min | 1 |

【注】：1）**预变性温度和时间**：推荐使用 94°C。预变性推荐时间：质粒 DNA 等简单模板为 30 sec；cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 3 min；高 GC 含量模板为 5-10 min。

2）**退火温度和时间**：推荐使用 60°C，也可根据需要，设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间设置为 20 sec，可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。

3）**扩增产物**：请将 PCR 扩增产物放置于-20°C保存，防止 DNA 发生降解。