

Taq DNA Polymerase

产品简介

Taq DNA Polymerase 简称 Taq 酶，是一种来源于嗜热菌 *Thermus aquaticus* 的高度热稳定的 DNA 聚合酶，95°C 孵育时的半衰期大于 40 min。Taq 酶的分子量为 94 kDa。Taq 酶可以催化 5'至 3'方向的依赖于 DNA 模板的脱氧核苷酸的聚合。Taq 酶没有 3'至 5'的外切酶活性，有非常低的 5'至 3'外切酶活性。由于 Taq 酶没有 3'至 5'的外切酶活性，因此在 DNA 聚合过程中相当于核苷酸转移酶的作用，最终会导致 PCR 产物的 3'末端会产生 3'-dA overhangs，即产生带一个 A 的 3'粘端。

产品应用

PCR、DNA 标记和测序等。可以扩增长度达 5 kb 的 DNA 片段，最长可以扩增长达 8kb 的 DNA 片段。通常适合扩增 3 kb 以下的 DNA 片段。扩增产生的 PCR 产物带有 3'-dA overhangs，可以用于基于 T 载体的 PCR 片段克隆。PCR 反应过程中可以掺入生物素、地高辛或一些荧光基团标记的脱氧核苷酸，即可以用核酸的标记反应。除用于各种 PCR 扩增以及 DNA 标记外，还可以用于 DNA 测序。

产品组分

酶储存溶液：20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 100 mM KCl, 0.5% (v/v) Nonidet P40, 0.5% (v/v) Tween 20 and 50% (v/v) glycerol。

10X PCR Buffer (with Mg^{2+}): 100 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C), 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 0.8% (v/v) Nonidet P40。

纯度：不含 DNA 内切酶、外切酶和磷酸酯酶，不含 RNA 酶，满足常规 PCR 反应要求。

失活或抑制：酚氯仿抽提可以使 Taq 酶失活，加入脱氧胆酸钠至 0.06%，SDS 至 0.01%，或 sarkosyl 至 0.02%均可以抑制 Taq 酶。

产品活性

1 单位(U) Taq DNA Polymerase 活力定义为在 70°C、30 min 内。酶活性在以下混合物中测定：67 mM Tris-HCl (25°C, pH 8.8), 6.7 mM $MgCl_2$, 1 mM 2-巯基乙醇, 50 mM NaCl, 0.1 mg/ml BSA, 0.75 mM 活化小牛胸腺 DNA, 每种 dNTP 0.2 mM, 0.4 MBq/ml [3H]dTTP。

产品信息

组分编号	组分名称	组分规格		
HX1001-1	Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	200 U	1000 U	5000 U
HX1001-2	10X PCR Buffer (with Mg ²⁺)	1 ml	1 ml×4	10 ml×2

储存条件

-20℃ 保存。

使用说明

1. 融解并混匀 PCR 反应所需的各种溶液。PCR 反应体系的设置：

试剂	最终浓度	体积
双蒸水或 Milli-Q 水	-	(36.75-x) μl
10X PCR Buffer (with Mg ²⁺)	1 X	5 μl
dNTP (2.5 mM each)	0.2 mM each	4 μl
模板 DNA	10 pg-1 μg	X μl
引物混合物(10 μM each)	0.8 μM	4 μl
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	1.25 U/50 μl	0.25 μl
总体积	-	50 μl

2. 推荐的 PCR 反应程序如下：

步骤	温度	时间	循环数
预变性 s	94℃	3 min	1
变性	94℃	30 sec	30
退火	55℃	30 sec	
延伸	72℃	1 min	
最终延伸	72℃	10 min	1

注：

- 如果有多个类似的 PCR 反应，可以先配制大体积的包含水、buffer、dNTP 和 Taq 酶的混合物，然后分装到各 PCR 反应管内。根据情况，有时混合物中可以包括引物。PCR 反应的设置需根据模板、引物、PCR 产物的长度和 GC 含量等条件的不同设定不同的 PCR 反应条件包括温度、时间和循环数等。
- 通常引物的终浓度为 0.2 μM 时可获得良好的检测效果，也可以根据情况在 0.1-1.0 μ

M 范围内调整引物的终浓度。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。

- 3) 对于不同类型的模板在 50 μ l 反应体积中推荐用量如下：哺乳动物基因组 DNA：0.1-1 μ g；大肠杆菌基因组 DNA：10-100 ng；质粒 DNA：0.1-10 ng。过多的模板 DNA 容易导致非特异性的 PCR 产物。
- 4) 反应前用移液器轻轻吹打混匀或轻微 Vortex 混匀，室温离心数秒，使液体积聚于管底。如果 PCR 仪没有热盖，可在管内滴入一滴矿物油。
- 5) 延伸时间设置需根据 PCR 产物的长度进行设置，通常每 kb 产物的延伸时间为 1 min。对于初次进行的 PCR，为尽量确保可以扩增出预期的 PCR 产物，可以把循环数设置为 35。

注意事项

1. 由于 PCR 反应非常灵敏可以扩增目的基因序列超过 1000 万倍，在使用 Taq 酶时请注意避免微量待扩增 DNA 的污染，并尽量考虑设置不加模板的空白对照以确认是否有待扩增 DNA 的污染。
2. Taq DNA polymerase 在 PCR 过程中每循环的出错几率约为 2.2×10^{-5} ，对于大于 1kb 的 DNA 片段的克隆推荐使用出错几率更低的 DNA 聚合酶，对于普通的 PCR 或 RT-PCR 定性检测或定量检测，Taq DNA polymerase 是最佳选择。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。