

GDSIyo Taq DNA Polymerase

货号规格

货号	P1261	P1262	P1263
规格	500U	1,000U	12,000U

产品简介

GDSIyo Taq DNA Polymerase 是可冻干版的 Taq DNA Polymerase，来源于嗜热性细菌 *Thermus aquaticus*，分子量为 94 KD。扩增片段的长度可达 10 kb（简单模板）。延伸速度为 30s/kb（70~75℃）。该酶具有 5'→3'聚合酶活性，无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA，可直接用于 TA 克隆。本品根据冻干试剂的特征要求进行优化和配制，可获得理想的 Taq DNA Polymerase 冻干粉。

产品组成

Component	P1261	P1262	P1263
GDSIyo Taq DNA Polymerase (5U/μl)	100 μl	200 μl	100 μl × 24
10X Taq Buffer II (Mg ²⁺ free) ^[1]	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 24

[1] 10X Taq Buffer II (Mg²⁺ free) 不含 Mg²⁺ 和 dNTPs，如有需要请单独购买：25mM MgCl₂, #P9031；dNTPs (10 mM)，#P9013。

活性定义

一个活性单位 (U) 指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸

酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系，体系大小与组分量与添加顺序可调整：

Component	50-μl rxn	Final conc.
10X Taq Buffer II (Mg ²⁺ free)	5 μl	1X
25mM MgCl ₂	2-8 μl	1.0-4.0mM
dNTPs (10 mM)	1 μl	0.2 mM
upstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
downstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
GDSIyo Taq DNA Polymerase (5U/μl) ^[2]	0.25-0.5 μl	1.25-2.5U
template DNA ^[3]	1-4 μl	<1μg
超纯水 ^[4]	To 50 μl	-

[1] 引物终浓度建议范围：0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[2] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

[3] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50 μl 反应体系）。

Template	Dosage
人类基因组 DNA	0.1μg-1μg
λDNA	0.5ng-5ng
大肠杆菌基因组 DNA	10ng-100ng
质粒 DNA	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水（货号：P9021/P9022/P9023）。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	25-35
Annealing	55-68℃ ^[1]	30 sec	

Extension	72°C	Variable ^[2]	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 30-60sec/kb 来设最佳。

3. 分析结果

将产物与 loading buffer 混匀后进行琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要,可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有: 1 调整退火温度; 2 减少抑制剂的影响,如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分,需要高倍稀释(1:10000)后使用; 3 采用乙醇沉降洗脱,提高模板 DNA 的纯度; 4 使用 PCR 添加剂,如 PCR Enhancer (货号: P9041)、MgCl₂ (货号: P9031) 等可提高产量。

操作注意事项

1. 室温下 GDSlyo Taq DNA Polymerase 有一定的活性,为避免发生非特异性扩增,请于冰上配置反应体系,并且最后添加 GDSlyo Taq DNA Polymerase 或模板 DNA。
2. GDSlyo Taq DNA Polymerase 具有脱氧核苷酸转移酶活性,因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷,可直接用于 TA 克隆。也可以使用 Taq DNA 聚合酶进行加 A 反应。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间;上下游引物 3'末端避免互补,避免出现 3 个以上重复的 G 或 C,或出现发夹结构,否则会产生非特异性扩增;GC 含量控制在 40-60%,且上下游引物 GC 含量尽量接近;T_m 值控制在 55-65°C 之间,且上下游引物 T_m 值尽量接近,额外附加序列(酶切位点、修饰等)是非模板匹配序列,不参与 T_m 值计算。

本品仅供科学研究使用。